



Universitat de Lleida

PREMIS A TREBALLS DE RECERCA DE LA UdL
per a l'estudiantat de batxillerat i cicles formatius de grau superior

Construcció d'una bioimpressora 3D

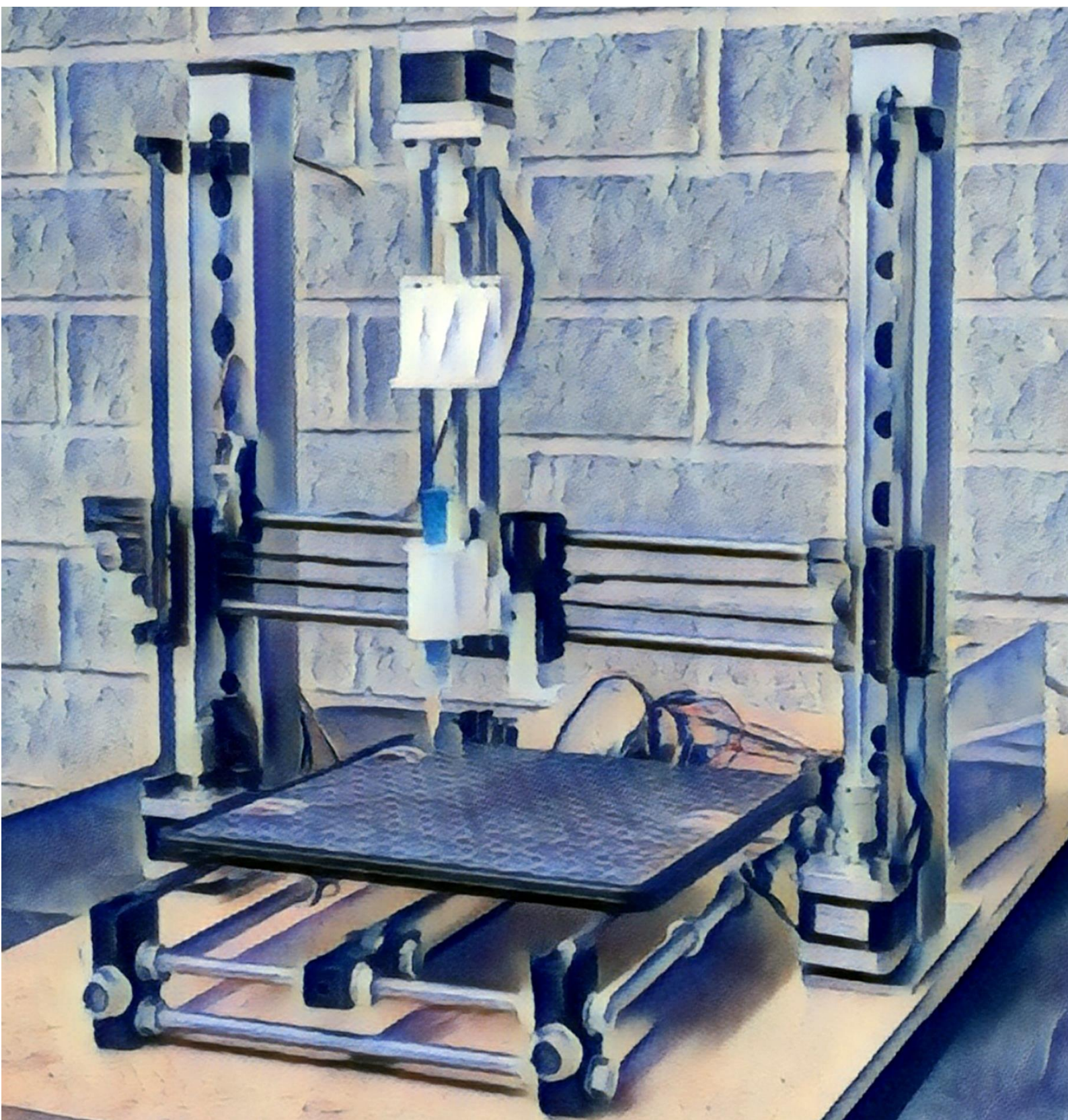
Maria Minguella Torra

Centre: Col·legi Claver (Lleida)

Tutor: Mireia Biosca Biosca

Data: juny, 2021

CONSTRUCCIÓ D'UNA BIOIMPRESSORA 3D



AUTOR/PSEUDÒNIM: Axis

ANY ACADÈMIC: 2020-2021

ABSTRACT

Durante las últimas tres décadas, la bioimpresión 3D se ha establecido como una de las tecnologías revolucionarias que serán esenciales para el futuro de nuestra sociedad. A pesar de ello, la mayoría de la gente solo tiene conocimientos muy básicos sobre su funcionamiento. Después de experimentar yo misma esta carencia de conocimiento, decidí educarme sobre el tema e intentar acercarme a esta tecnología haciendo mi propia bioimpresora.

Primero dividí mi investigación en dos categorías. Una dedicada a explicar todos los conceptos teóricos. Por ejemplo, esto incluiría como y con qué parámetros funciona una bioimpresora, qué puede imprimir y sus diferentes aplicaciones. El otro consiste en todo el proceso de construcción paso a paso desde la estructura hasta el software.

Para concluir, los resultados de esta investigación han sido bastante prometedores. El producto acabado cumple con todos los estándares de calidad que había establecido anteriormente, aunque dista mucho de conseguir los criterios de un laboratorio profesional. Además, tener un resultado tan deseable, de un presupuesto bajo puede conducir a la creación de impresoras más económicas. En otras palabras, esta investigación podría ser de gran ayuda para hacer que el acceso a esta tecnología sea más accesible para el público en general y países tercermundistas.

Palabras clave: Bioimpresión, biotinta, bioimpresora, extrusión y hidrogel.

For the past three decades, 3D bioprinting has been establishing itself as one of the revolutionary technologies that will become essential to our society's future. Despite this, most people only have anecdotal knowledge about it. Having experienced this exact gap of knowledge, I decided to educate myself on the topic and to try to bring this technology closer to my reach, making one bioprinter of my own.

For this to happen, I first divided my research into two categories. One dedicated to explaining all the theoretical concepts. For instance, this would include how and with what parameters a bioprinter works, what can it print and its different applications. The other one consists of the entire building process step by step from structure to the software.

To conclude, the results of this investigation have been quite promising. The finished product meets all the quality standards I had set previously, even though it is far from reaching a professional laboratory's criteria. Besides, having such a desirable outcome from such a low budget can lead to the development of more economically available printers. In other words, this research could be of help when trying to make access to this technology more accessible to the greater public and third-world countries.

Key words: Bioimpression, bioink, bioprinter, extrusion and hydrogel.

ÍNDEX

INTRODUCCIÓ	5
1. HISTÒRIA DE LA BIOIMPRESSIÓ 3D	6
2. QUÈ ÉS LA BIOIMPRESSIÓ 3D?	7
2.1. Bioimpressió per extrusió	7
2.2. Bioimpressió <i>inkjet</i>	8
2.3. Bioimpressió induïda per làser	9
2.4. Bioimpressió amb estereolitografia	10
3. PARTS D'UN BIOIMPRESSORA I DIFERÈNCIES QUE HI HA AMB UNA IMPRESSORA 3D CONVENCIONAL	12
4. BIOTINTES	13
4.1. BIOTINTES NATURALS	13
4.1.1. Col·lagen	13
4.1.2. Gelatina	14
4.1.3. Alginat	14
4.1.4. Quitosan	15
4.1.5. Àcid hialurònic	15
4.1.6. Fibrina	15
4.1.7. Agarosa	15
4.1.8. Metacrilat de gelatina (GelMA)	15
4.1.9. Tiramina de gelatina (GPT)	16
4.2. BIOTINTES SINTÈTIQUES	16
4.2.1. Polietilenglicol (PEG)	16
4.2.2. Àcids polihidròxids	16
4.2.3. Àcid plurònics	17
5. APLICACIONS DE LA BIOIMPRESSIÓ 3D	18
5.1. CIÈNCIES DE LA SALUT	18
5.1.1. Enginyeria de teixits i medicina regenerativa	18
5.1.2. Trasplantacions i assajos clínics	19
5.1.3. Recerca i descobriment de fàrmacs	19
5.1.4. Recerca del càncer	20
5.2. GASTRONOMIA	20
6. IMPRIMIBILITAT	22
6.1. TEMPS <i>GELATION</i>	22
6.2. BIOCOMPTABILITAT	23
6.2.1. Citotoxicitat	23
6.2.2. Irritació	23

6.2.3.	Toxicitat subcrònica.....	24
6.2.4.	Genotoxicitat.....	24
6.2.5.	Test d'implantació.....	24
6.3.	VIABILITAT CEL·LULAR.....	25
6.4.	BIODEGRADABILITAT.....	25
6.5.	VISCOSITAT DEL MATERIAL.....	25
6.6.	RESOLUCIÓ ESPACIAL	26
7.	HIDROGELS.....	27
7.1.	QUÈ ÉS UN HIDROGEL.....	27
7.2.	RETICULACIÓ.....	27
7.3.	MÈTODES DE RETICULACIÓ.....	28
7.4.	TIPUS D'HIDROGELS.....	28
7.4.1.	Hidrogels elastòmers.....	28
7.4.2.	Hidrogels fotosensibles	29
7.4.3.	Hidrogels reforçats.....	29
7.4.4.	Hidrogels amb memòria de forma.....	30
7.4.5.	Hidrogels amb bio-resposta	31
7.5.	APLICACIONS	31
8.	PART PRÀCTICA (CONSTRUCCIÓ DE LA BIOIMPRESSORA)	33
8.1.	MATERIALS.....	33
8.2.	PREPARACIÓ PRÈVIA	33
8.3.	PROCÉS DE CONSTRUCCIÓ	34
8.3.1.	Axis-Y.....	34
8.3.2.	Axis-X.....	37
8.3.3.	Axis-Z	39
8.3.4.	Extrusor.....	40
8.3.5.	Endstops.....	43
8.3.6.	Hardware.....	43
8.3.7.	Software	45
8.3.8.	Biotinta.....	47
8.3.9.	Estructura	47
9.	RESULTATS	49
10.	CONCLUSIONS.....	51
	BIBLIOGRAFIA	53
	ANNEX I.....	59

AGRAÏMENTS

M'agradaria agrair tot el suport que he rebut del col·legi, el qual m'ha donat accés a tots els recursos que podia necessitar, i especialment a la meva tutora, que m'ha acompanyat i motivat durant tot el procés.

També m'agradaria agrair a la meva família, els quals m'han ajudat amb les dificultats que m'he trobat.

INTRODUCCIÓ

La bioimpressió 3D cada cop més s'està integrant en diversos àmbits de gran importància com ara la medicina, fins al punt que molt ja ho consideren la següent gran revolució tecnològica. Però alhora també estan molt distanciat de la població, ja que la gran majoria d'aquesta no en coneix res o la seva informació és més aviat anecdòtica.

La curiositat de poder entendre i conèixer com funcionen les bioimpresores 3D és la que em motiva a tirar endavant aquest projecte. Des de sempre m'han interessat els temes que fusionen les ciències amb la tecnologia. L'afany per descobrir si tinc les capacitats necessàries per a dur a terme un projecte així i saber si més endavant dedicaré la meua vida personal en aquest àmbit o similar són les principals raons per les quals he escollit aquest tema. Tot i que, cal mencionar que aquest tema em va sorgir pel fet de participar en el programa de "Bojos per la Bioenginyeria" que ofereix la fundació Catalunya La Pedrera, en la qual s'organitzaven tallers relacionats amb aquest tipus de temàtica.

Aquest projecte es divideix en dues parts principals.

La primera es tracta del marc teòric. Aquest que se centra en assolir el primer objectiu mitjançant la recerca de tots els conceptes teòrics relacionats amb la bioimpressió. Això inclouria què és una bioimpressora, els seus tipus, la seva història, com funciona, en quins àmbits de la nostra societat es pot aplicar, amb quins materials s'imprimeix i què es pot imprimir. D'aquest últim subapartat cal remarcar que tot i que es mencionaran la gran majoria dels tipus de materials i objectes existents que es poden bioimprimir, aquest treball es centrarà principalment en els hidrogels, gràcies a la seva popularitat, versatilitat d'usos en diferents àmbits i facilitat de recrear en un entorn casolà.

Resumint breument el que s'acaba de mencionar, la part teòrica conté tots els conceptes bàsics i imprescindibles per poder entendre la resta del treball.

La segona part se centra en el marc pràctic d'aquest projecte, la qual tractarà de tots els aspectes relacionats amb el procés de construcció d'una bioimpressora des de zero, explicant detalladament el procés de construcció pas a pas i amb imatges de guia. També es mencionen els materials emprats per al muntatge amb el seu preu i lloc de compra, el software i les modificacions de firmware utilitzades, la biotinta utilitzada per la impressió i el protocol de calibratge de la bioimpressora.

Durant aquest treball de recerca, m'he plantejat els següents **objectius**:

- Entendre com funciona una bioimpressora 3D i amb què es diferencia d'altres tipus d'impressores 3D.
- Ser capaç de construir-ne una de pròpia.
- Aportar una alternativa de bioimpressora menys cara per a aquells països en vies de desenvolupament que no s'ho puguin permetre i per a que es pugui normalitzar aquesta tecnologia arreu del món.

1. HISTÒRIA DE LA BIOIMPRESSIÓ 3D

1984: Charles Hull inventa i patentava el primer tipus de bioimpressora 3D, basat en l'estereolitografia¹.

Anys noranta: Es creen els primers nanomaterials amb els quals s'hi pot imprimir.

1996: S'utilitza per primer cop en la història un biomaterial per a teràpies regeneratives.

1999: Impressió de la primera bastida² (*scaffold*) sintètica d'una bufeta humana, la qual després és coberta per cèl·lules d'un donant i s'hi aconsegueix fer créixer l'òrgan.

2002-2003: Thomas Boland desenvolupa i patentava un nou mètode de bioimpressió anomenat bioimpressió *inkjet*³. També durant aquest any s'imprimeix un ronyó capaç de filtrar la sang i produir orina en un model animal.

2004: Primera impressió d'un teixit sense utilitzar bastida.

2008: La primera cama prostètica impresa en una impressora 3D és implantada amb èxit a un humà.

2009: Invenció de la primera bio impressora comercialitzable *Novogen MMX* de l'empresa estatunidenca *Organovo*. Mesos més tard, amb aquesta impressora es creen els primers vasos sanguinis sense ús de *scaffold*.

A partir del 2010-present: Cada cop més es van desenvolupant nous mètodes per a imprimir òrgans i teixits del nostre cos. Exemples: impressió de pell (2010), cartílag (2010), fetge sintètic (2012), teixits amb circulació sanguínia (2014) o vàlvules cardíques (2016).

¹ Més informació d'aquest concepte a la pàgina 10.

² Bastida/*Scaffold*: Normalment feta a partir d'un hidrogel, s'utilitza per a crear la forma d'un òrgan o teixit determinat, per així donar suport a les cèl·lules que se li injectaran per a formar l'òrgan/teixit en si.

³ Més informació d'aquest concepte a la pàgina 8.

2. QUÈ ÉS LA BIOIMPRESSIÓ 3D?

La bioimpressió 3D també és coneguda com una tècnica de fabricació additiva la qual s'utilitza en una gran varietat d'àmbits, com ara són: enginyeria, art, educació, medicina i gastronomia.

Si ens fixem en l'àmbit de la salut, les aplicacions d'aquesta tecnologia cada cop més s'estan expandint, un exemple pot ser la fabricació de teixits i òrgans o l'administració de medicaments. Recentment, la recerca dins de la impressió 3D s'ha enfocat en el desenvolupament d'estructures biomimètiques mitjançant l'ús de biomaterials que contenen cèl·lules vives, també anomenat bioimpressió 3D.

Les bioimpressores són normalment agrupades en quatre categories depenent de quin mètode utilitzen per a crear les estructures 3D, aquestes són: extrusió, assistides per làser, *inkjet* i estereolitografia. A continuació, es parlarà dels seus avantatges i inconvenients que tenen cada un d'aquests mètodes, els quals poden variar com seran els seus resultats, la probabilitat de supervivència de les cèl·lules que injecta o quin tipus de biotintes es poden fer servir.

2.1. Bioimpressió per extrusió

El mètode de bioimpressió per extrusió és el més utilitzat actualment. Es diferencia del mètode *inkjet* en el fet que té l'habilitat de poder imprimir amb materials molt viscosos. Això és possible gràcies al fet que a l'extrusor hi ha un pistó. Quan a aquest se li aplica pressió constant, pot extrudir línies cilíndriques de forma continuada en comptes d'un seguit de gotes (Fig. 1), i que a més a més es poden aplicar fàcilment cap a la construcció d'objectes 3D de gran mida.

També cal destacar que aquest mètode és compatible amb gairebé totes les biotintes i pot imprimir diversos materials simultàniament a un preu raonable, permetent la fabricació de teixits heterogenis.

Tot i això, el seu principal inconvenient és la poca viabilitat cel·lular, a causa de l'alt estrès mecànic que ocorre durant el procés d'impressió, i la seva poca resolució espacial⁴.

⁴ Resolució espacial: Capacitat de distingir estructures de poca grandària. (Més detall a la pàgina 26)

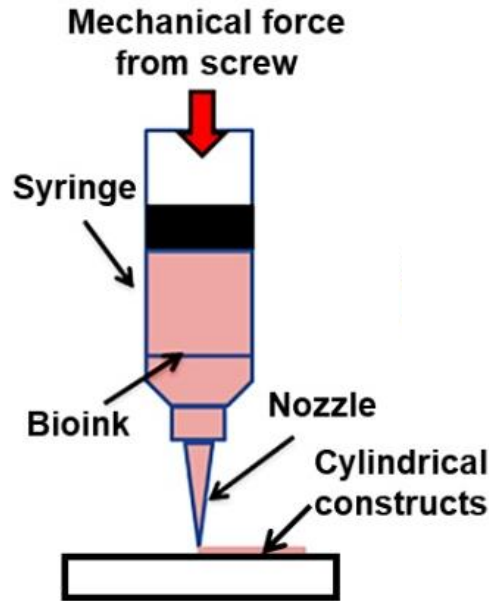


Fig. 1. Model il·lustrat d'una bioimpressora que utilitza el mètode d'extrusió per a imprimir.

2.2. Bioimpressió *inkjet*

En el mètode de bioimpressió *inkjet*, una barreja de solució de pre-polímer hidrogel i cèl·lules és emmagatzemada en una cambra connectada a l'extrusor. Durant el procés d'impressió, l'extrusor és deformat per un transductor piezoelèctric (Fig. 2) que empeny la biotinta en forma de gotes de la mida que es desitgi. A partir d'aquestes gotes es podran formar teixits espacialment definits.

Els principals avantatges d'aquest mètode són l'alta viabilitat cel·lular⁵ i el seu baix cost.

Tot i això, també té un gran nombre de problemes, incloent la inhabilitat d'imprimir material viscos, que s'obstrueix fàcilment i la irregularitat en la concentració cel·lular durant la impressió. Però més important encara, la dificultat de construir una estructura 3D que es pugui mantenir sense ajuda que tingui més d'un mil·límetre de gruix.

⁵ Més informació d'aquest concepte a la pàgina 25.

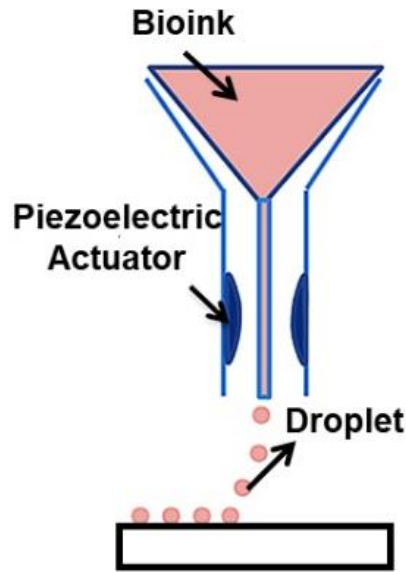


Fig. 2. Model il·lustrat d'una bioimpressora que utilitza el mètode inkjet per a imprimir.

2.3. Bioimpressió induïda per làser

La bioimpressió induïda per làser és una versió modificada del mètode *inkjet* la qual supera els problemes d'obstrucció i de compatibilitat amb certs materials.

Aquest tipus normalment està compost per 3 parts:

- Una capa "donant" que absorbeix energia la qual respon a l'estimulació del làser.
- Una capa de biotinta que se situa a sota de la capa "donant".
- Una capa col·lectora en la qual es formarà el teixit que es vulgui construir.

Durant el procés d'impressió, un pols làser es centra en una petita àrea situada damunt de la capa "donant". Un cop l'energia s'ha absorbit, aquesta petita àrea es vaporitza i crea una bombolla d'aire amb gran pressió a dins situada entremig de la capa "donant" i la de biotinta. Aquesta bombolla empeny la biotinta perquè formi una gota, la qual serà recollida en la capa col·lectora i conseqüentment es formarà el teixit (Fig. 3).

La bioimpressió amb làser és compatible amb materials viscosos i/o que continguin una alta concentració de cèl·lules. A més a més, també té una alta viabilitat cel·lular, concretament d'un 95%.

Els seus principals desavantatges serien un cost elevat perquè les capes no són reutilitzables i el fet que tampoc no pot construir estructures grans.

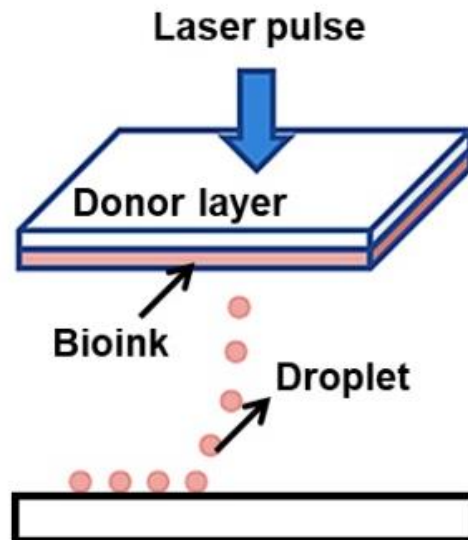


Fig. 3. Model il·lustrat d'una bioimpressora que utilitza el mètode de bioimpressió induïda per làser.

2.4. Bioimpressió amb estereolitografia

És un mètode d'impressió que es basa en la llum, això significa que només és compatible amb biotintes que siguin fotosensibles⁶. Durant el procés, una imatge amb patró binari d'un projector és utilitzada per a adobar una capa de biotinta fotoadobable⁷ (Fig. 4). Només les àrees que són exposades a una llum blanca d'alta intensitat poden rebre l'energia suficient per a adobar-se, i d'aquí en sorgeix l'estructura.

Aquest mètode ofereix un gran nombre d'avantatges en comparació amb altres mètodes:

- La duració de la impressió es manté constant sense importar la complexitat del patró que hi puguin haver en una capa. Això és possible gràcies a el patró sencer és projectat al mateix temps a la plataforma d'impressió.
- Com a resultat del punt anterior el procés d'impressió és més ràpid.
- Ofereix la resolució espacial més alta de tots els mètodes existents, ja que la resolució és definida per la mida del píxel del projector (que normalment és de menys de 50 μm).

Tot i tots aquests avantatges, un problema significatiu d'aquest mètode és l'habilitat limitada d'imprimir més d'un material simultàniament.

⁶ Fotosensible: Reacciona a la llum.

⁷ Fotoadobable: El material s'endureix un cop rep un estímul, en aquest cas de llum.

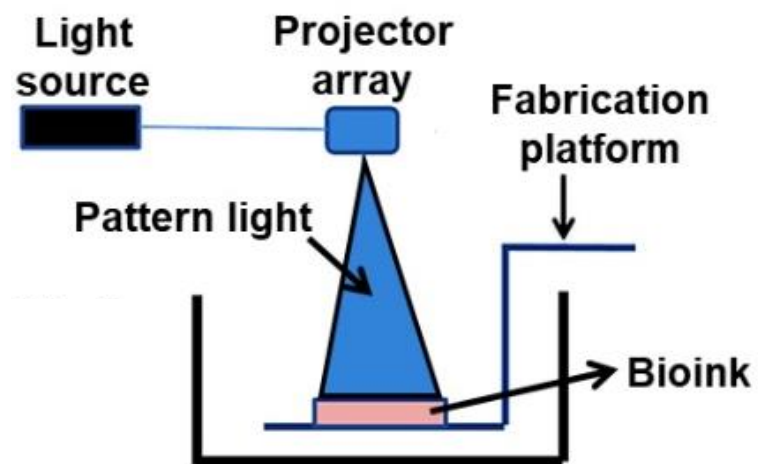


Fig. 4. Model il·lustrat d'una bioimpressora que utilitza el mètode d'estereolitografia per a imprimir.

3. PARTS D'UN BIOIMPRESSORA I DIFERÈNCIES QUE HI HA AMB UNA IMPRESSORA 3D CONVENCIONAL

La majoria de bioimpressores tenen les mateixes parts bàsiques, incloent-hi aquí l'extrusor, els axis XYZ, la plataforma d'impressió, les reserves, les xeringues i la biotinta.

L'axis-X és el que permet que l'extrusor es mogui horitzontalment per la plataforma.

L'axis-Y és on se situa la plataforma on s'imprimiran els objectes, i on per tant, es trobarà a la base de la impressora. També permet que l'extrusor es pugui desplaçar tan endavant com endarrere.

L'axis-Z és el que permet que l'extrusor es mogui verticalment durant la impressió.

L'extrusor és unit a una barra metàl·lica que és propulsada per un motor en l'axis-X. Les reserves estan unides a l'extrusor i la seva funció és la d'emmagatzemar la biotinta que s'utilitzarà durant el procés d'impressió. L'extrusor, que és on se situaria la xeringa, poden alliberar la biotinta de diferents mètodes, tal com s'ha mencionat prèviament. La biotinta és un biomaterial que està format per cèl·lules vives i un microgel, habitualment un hidrogel, que les manté en suspensió.

La plataforma és una superfície plana on la peça reposarà durant el període de fabricació i la qual amb l'ajuda d'un altre motor es podrà moure tant endavant com endarrere en l'axis-Y.

Totes les principals diferències que existeixen entre una bioimpressora 3D i una impressora 3D radiquen en una part: l'extrusor.

Per començar, la forma d'aquest, per a una impressora 3d estàndard s'utilitza un broquet metàl·lic que ha de tenir la capacitat d'escalfar-se a més 100 °C perquè el filament pugui passar. En canvi, la bioimpressora necessita una xeringa estèril i la temperatura del cos humà per així evitar la mort de les cèl·lules.

I per altra part, el material. Com s'acaba de mencionar, la impressora utilitza filament. Aquest pot ser una gran varietat de plàstics, els més comuns són el PLA (el filament de menys qualitat) i el ABS. La bioimpressora, utilitza un seguit de biotintes, com ara poden ser l'agarosa o l'alginat de sodi, les quals s'explicaran més detalladament en un altre apartat.

4. BIOTINTES

Els materials que s'utilitzen per a la creació de biotintes es poden dividir en dues categories: polímers de derivació natural i polímers sintètics.

Els polímers de derivació natural inclouen entre d'altres la gelatina, el col·lagen o l'alginat, els quals s'explicaran amb més detall més endavant. Aquests s'utilitzen en l'enginyeria de teixits i la medicina regenerativa per a la creació de material que encapsuli cèl·lules vives, ja que els hidrogels derivats d'aquest grup són molt similars als teixits i òrgans del cos humà.

En canvi, els polímers sintètics són produïts mitjançant la sintetització o la barreja de diferents polímers naturals. En aquesta secció, les característiques dels dos tipus seran explicades.

4.1. BIOTINTES NATURALS

4.1.1. Col·lagen

El col·lagen és el component principal en el teixit conjuntiu i la proteïna més abundant en els mamífers, la qual seria un 30% de totes les proteïnes del cos humà⁸. El col·lagen està format per prolina, glicina i hidroxiprolina. Aquest pot adoptar diferents formes dins del cos, tot i que normalment es troba a la pell, els ossos i en cartillags⁹. La seva principal funció és la regulació del comportament de les cèl·lules¹⁰. Tot i que es pot utilitzar per si sol com a hidrogel per a imprimir¹¹, aquest és molt feble així que normalment s'hi barregen altres polímers¹².

⁸ Hunt, Nicola C., and Liam M. Grover. "Cell Encapsulation Using Biopolymer Gels for Regenerative Medicine." *Biotechnology Letters*, vol. 32, no. 6, 2010, pp. 733–42, doi:10.1007/s10529-010-0221-0.

⁹ Kim, Geunhyung, et al. "Coaxial Structured Collagen-Alginate Scaffolds: Fabrication, Physical Properties, and Biomedical Application for Skin Tissue Regeneration." *J. Mater. Chem.*, vol. 21, Apr. 2011, pp. 6165–72, doi:10.1039/C0JM03452E.

¹⁰ Liu, C. Z., et al. "Novel 3D Collagen Scaffolds Fabricated by Indirect Printing Technique for Tissue Engineering." *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*, vol. 85, no. 2, 2008, p. 519–528, doi:10.1002/jbm.b.30975.

¹¹ Lee, Wonhye, et al. "Multi-Layered Culture of Human Skin Fibroblasts and Keratinocytes through Three-Dimensional Freeform Fabrication." *Biomaterials*, vol. 30, Mar. 2009, pp. 1587–95, doi:10.1016/j.biomaterials.2008.12.009.

¹² El-Sherbiny, Ibrahim M., and Magdi H. Yacoub. "Hydrogel Scaffolds for Tissue Engineering: Progress and Challenges." *Global Cardiology Science and Practice*, vol. 2013, no. 3, 2013, p. 38, doi:10.5339/gcsp.2013.38.

4.1.2. Gelatina

La gelatina és una forma del col·lagen que ha estat parcialment hidrolitzada¹³, la qual té una alta biocompatibilitat en conservar una estructura similar a la del col·lagen¹⁴. Es dissol quan la temperatura supera els 40 °C i quan es refreda per sota dels 35 °C adopta una textura gelatinosa.

Gràcies a aquestes propietats termo-sensitives, la gelatina és considerada un dels polímers més versàtils en la bio-impressió¹⁵. Tanmateix, un desavantatge d'aquest polímer és que no es pot utilitzar per si sol i cal ajuntar-lo amb un altre polímer. Això és degut al fet que fa una reacció on es reverteix tot el procés i hi ha dificultats per a optimitzar la temperatura i viscositat de la solució gelatinosa durant el procés de bioimpressió.

4.1.3. Alginat

L'alginat és un polisacàrid derivat d'algues que es poden trobar en diversos llocs del món¹⁶. Quan és dissolt en una solució aquosa forma el que es coneix com a hidrocol·loides, que s'utilitzen per a tractar ferides¹⁷ (Fig. 5). L'alginat també té una bona biocompatibilitat, però al llarg del temps la rigidesa de les estructures que ha creat es va degradant gradualment.



Fig. 5. Tireta per a butllofes creada a partir d'hidrocol·loides.

¹³ Hidrolitzada: Substància química que s'ha descompost per l'acció de l'aigua.

¹⁴ Palmer, Liam C., et al. "Biomimetic Systems for Hydroxyapatite Mineralization Inspired by Bone and Enamel." *Chemical Reviews*, vol. 108, no. 11, Nov. 2008, pp. 4754–83, doi:10.1021/cr8004422.

¹⁵ Mano, F., et al. *Natural Polymers for the Microencapsulation of Cells*. 2014.

¹⁶ Lee, Wonhye, et al. "Multi-Layered Culture of Human Skin Fibroblasts and Keratinocytes through Three-Dimensional Freeform Fabrication." *Biomaterials*, vol. 30, Mar. 2009, pp. 1587–95, doi:10.1016/j.biomaterials.2008.12.009.

¹⁷ Ichioka, S., et al. "An Experimental Comparison of Hydrocolloid and Alginate Dressings, and the Effect of Calcium Ions on the Behaviour of Alginate Gel." *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery and Hand Surgery*, vol. 32, no. 3, Sept. 1998, pp. 311–16, doi:10.1080/02844319850158660.

4.1.4. Quitosan

El quitosan és un polisacàrid obtingut de la quitina que es troba als ossos dels calamars o a les closques dels crustacis. El seu potencial radica sobretot en hidrogels dedicats al lliurament de fàrmacs a llarga durada i al tractament de ferides. Per a obtenir l'hidrogel el quitosan és dissolt en condicions acídiques d'un pH de 5 o menys i després se li incrementa el valor pH per a convertir-lo en un gel.

4.1.5. Àcid hialurònic

L'àcid hialurònic és una bio tinta prometedora en l'àmbit de la bioimpressió 3D perquè és biodegradable, biocompatible i té propietats no immunogèniques, aquest últim significa que no pot provocar una resposta immunitària del cos⁹⁰. Tot i això, no és prou estable i és molt soluble en l'aigua.

4.1.6. Fibrina

La fibrina és un dels components de la matriu extracel·lular. Normalment s'utilitza com a pegament perquè es gelifica de forma espontània gràcies a una reacció química entre el fibrinogen (una proteïna) i la trombina (un enzim)¹⁸.

4.1.7. Agarosa

L'agarosa és un polisacàrid que s'ha extret de les algues. La seva gelificació ocorre quan la temperatura de l'agarosa dissolta es refreda a temperatura ambient.

L'avantatge de l'agarosa és la seva propietat termo-sensitiva, fent així que no sigui necessari barrejar-hi cap més substància perquè sigui estable.

Però, el seu desavantatge és que no és biodegradable dins del cos humà, tampoc és adequat per a cèl·lules de mamífers i té molt poca imprimibilitat al ser derivat d'una planta¹⁹.

4.1.8. Metacrilat de gelatina (GelMA)

El metacrilat de gelatina és un polímer que s'utilitza en l'enginyeria de teixits, com ara la creació de cartílags, ossos i teixits vasculars. És sintetitzat a partir de gelatina i anhídrid metacrílic (MA) que posteriorment s'han solidificat irradiant rajos UV¹².

¹⁸ Janmey, Paul A., et al. "Fibrin Gels and Their Clinical and Bioengineering Applications." *Journal of the Royal Society, Interface*, vol. 6, no. 30, Jan. 2009, pp. 1–10, doi:10.1098/rsif.2008.0327.

¹⁹ Kim, Ji Seon, et al. "Bio-Ink Materials for 3D Bio-Printing." *Journal of International Society for Simulation Surgery*, vol. 3, no. 2, 2016, pp. 54, doi:10.18204/jissis.2016.3.2.049.

El seu avantatge és que és biocompatible, té viabilitat cel·lular de llarga durada, la capacitat que es pugui solidificar amb llum i que les cèl·lules es puguin enllaçar establint així comunicació entre elles.

4.1.9. Tiramina de gelatina (GPT)

Els hidrogels d'aquesta substància es formen ràpidament, i es poden reticular in situ a partir d'una reacció d'enzims que utilitzin peroxidasa de rave (HRP) i peròxid d'hidrogen (de formulació química H_2O_2 o també conegut com a aigua oxigenada)²⁰. Aquesta substància és coneguda per les seves propietats de biocompatibilitat, biodegradabilitat i força mecànica.

Però, és totalment dependent del peròxid d'hidrogen per a formar l'hidrogel, i això afecta la seva viabilitat cel·lular.

4.2. BIOTINTES SINTÈTIQUES

4.2.1. Polietilenglicol (PEG)

PEG té la propietat que és capaç d'absorbir aigua i el seu procés de gelificació es fa mitjançant fotoiniciadors²¹. La seva solubilitat és apta per l'encapsulació de cel·lular però, PEG no és prou fort per a poder fabricar estructures 3D així que és necessari fer-li una modificació química. Tampoc és capaç de ser degradat de forma natural, però se li pot incorporar segments degradables per a canviar-ho.

4.2.2. Àcids polihidròxids

Els àcids polihidròxids com són l'àcid polilàctic-glicòlic (PLGA) o l'àcid l-polilàctic (PLLA) són polímers sintètics biocompatibles i biodegradables que s'utilitzen en implants o fàrmacs. Les seves propietats termoplàstiques i força mecànica són un gran avantatge en la bioimpressió²². També, la seva velocitat de degradació és fàcilment controlable. Per contra, la seva temperatura de fusió és al voltant dels 60 °C, cosa que compromet la viabilitat cel·lular perquè les cèl·lules no poden suportar tal temperatura. I la seva viscositat és tan alta que la força necessària per a poder extrudir aquesta biotinta sobrepassa els límits pràctics.

²⁰ Kim, Ji Seon, et al. "Bio-Ink Materials for 3D Bio-Printing." *Journal of International Society for Simulation Surgery*, vol. 3, no. 2, 2016, pp. 52, doi:10.18204/jissis.2016.3.2.049.

²¹ Fotoiniciador: Molècula que reacciona quan s'exposa a la radiació.

²² Abelardo, E. "Synthetic Material Bioinks." *3D Bioprinting for Reconstructive Surgery*, Elsevier Ltd., 2018, doi:10.1016/B978-0-08-101103-4.00009-0.

Per aquests motius, a aquest material se'l pot considerar més un additiu a materials per a la bioimpressió que no pas una bio-tinta en si.

4.2.3. Àcid plurònics

Aquesta bio-tinta té característiques similars al PEG que s'ha mencionat prèviament. El seu principal avantatge és que té una gran resolució. Tot i això, té molt poca força mecànica tot havent utilitzat mètodes per a enfortir-la, com ara seria la reticulació, i té poca viabilitat cel·lular perquè no té la capacitat que les cèl·lules se li puguin adherir.^{23, 24}

²³ Müller, Michael, et al. "Nanostructured Pluronic Hydrogels as Bioinks for 3D Bioprinting." *Biofabrication*, vol. 7, no. 3, IOP Publishing, 2015, p. 35006, doi:10.1088/1758-5090/7/3/035006.

²⁴ Smith, Cynthia M., et al. "Three-Dimensional Bioassembly Tool for Generating Viable Tissue-Engineered Constructs." *Tissue Engineering*, vol. 10, no. 9–10, 2004, pp. 1566–76, doi:10.1089/ten.2004.10.1566.

5. APLICACIONS DE LA BIOIMPRESSIÓ 3D

Les aplicacions de la bioimpressió es poden dividir en dos àmbits:

5.1. CIÈNCIES DE LA SALUT

En l'àmbit de les ciències de la salut, la bioimpressió s'ha implementat en diverses àrees. Les principals són:

5.1.1. Enginyeria de teixits i medicina regenerativa

La medicina regenerativa i l'enginyeria de teixits utilitzen la bioimpressió amb l'objectiu de crear òrgans funcionals per al cos humà. Això és gràcies a la precisió en posicionar els diferents tipus de cèl·lules i poder-les posar en un patró, cosa que ha permès la fabricació de teixits orgànics amb un medi heterocel·lular (diferents tipus de cèl·lules en un sol teixit).

Tot i això, òrgans de grans dimensions que no són possibles de ser fabricats perquè no hi ha prou integració de la xarxa vascular, integritat mecànica i estructural limitada o no massa funcionalitat a llarg termini²⁵. Malgrat aquestes dificultats, ja s'han aconseguit imprimir amb èxit com ara vasos sanguinis²⁶, cartílag (Fig. 6), ossos²⁷ i pell²⁸.

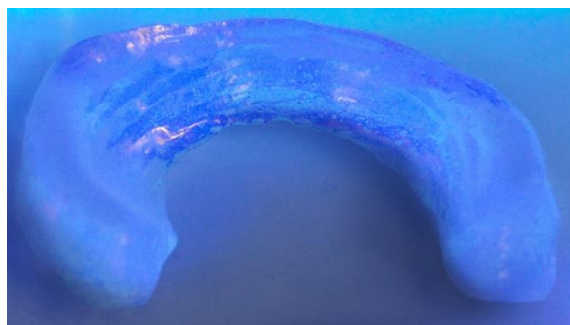


Fig. 6. Menisc bioimprès a l'institut de recerca Codivilla-Putti de Bolonya, Itàlia. Font: (Roseti et al.)

²⁵ Ozbolat, Ibrahim T., and Yin Yu. "Bioprinting toward Organ Fabrication: Challenges and Future Trends." *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 60, no. 3, 2013, pp. 691–99, doi:10.1109/TBME.2013.2243912.

²⁶ Itoh, Manabu, et al. "Scaffold-Free Tubular Tissues Created by a Bio-3D Printer Undergo Remodeling and Endothelialization When Implanted in Rat Aortae." *PLoS ONE*, vol. 10, no. 9, 2015, pp. 1–15, doi:10.1371/journal.pone.0136681.

²⁷ Makris, Eleftherios A., et al. "Repair and Tissue Engineering Techniques for Articular Cartilage." *Nature Reviews. Rheumatology*, vol. 11, no. 1, Jan. 2015, pp. 21–34, doi:10.1038/nrrheum.2014.157.

²⁸ Yanez, Maria, et al. "In Vivo Assessment of Printed Microvasculature in a Bilayer Skin Graft to Treat Full-Thickness Wounds." *Tissue Engineering. Part A*, vol. 21, no. 1–2, Jan. 2015, pp. 224–33, doi:10.1089/ten.TEA.2013.0561.

5.1.2. Trasplantacions i assajos clínics

Els teixits i òrgans que s'han aconseguit imprimir són avaluats per a veure si són aptes per al trasplantament mitjançant el trasplantament a un animal. També, alguns teixits van ser implantats subcutàniament per a veure la seva funcionalitat²⁹.

Tot i que aquesta tecnologia encara es troba en els seus inicis, implants de teixit ossi metàl·lics, plàstics i ceràmics s'han trasplantat amb èxit en humans³⁰.

Però no ens hem d'oblidar, que encara es necessita fer més recerca perquè es pugui considerar com una opció més realista en assajos clínics, ja que òrgans que són molt metabòlicament alts (com ara són el cor, el pàncrees o el fetge) són desafiants.

5.1.3. Recerca i descobriment de fàrmacs

La recerca i desenvolupament de fàrmacs és un procés llarg i car que requereix una inversió substancial de recursos humans i financers. Tot i els esforços que hi ha per a fer aquest procés més productiu, cada any s'estima que només 1 de 10 candidats a fàrmacs supera la fase d'aprovació i entra al mercat³¹.

El fet de millorar l'habilitat de preveure l'eficàcia i toxicitat de candidats a fàrmacs més aviat, significaria un increment de velocitat del temps d'un fàrmac està en prova i arriba al mercat. Això es podria realitzar gràcies a l'ajuda de teixits impresos amb la seva capacitat d'imitar el teixit real. A més a més, la bioimpressió ofereix l'avantatge de tenir un risc baix de contaminació.

Recentment, companyies de bioimpressió han desenvolupat models de teixits per a aquesta recerca³². Per exemple, durant el novembre de l'any 2014, l'empresa estatunidenca Organovo va començar a oferir models impresos de teixits de fetges on es podria avaluar si el fàrmac és tòxic pel fetge.

²⁹ Fedorovich, Natalja E., et al. "Biofabrication of Osteochondral Tissue Equivalents by Printing Topologically Defined, Cell-Laden Hydrogel Scaffolds." *Tissue Engineering. Part C, Methods*, vol. 18, no. 1, Jan. 2012, pp. 33–44, doi:10.1089/ten.TEC.2011.0060.

³⁰ Bose, Susmita, et al. "Bone Tissue Engineering Using 3D Printing." *Materials Today*, vol. 16, Dec. 2013, pp. 496–504, doi:10.1016/j.mattod.2013.11.017.

³¹ Nam, Ki-Hwan, et al. "Biomimetic 3D Tissue Models for Advanced High-Throughput Drug Screening." *Journal of Laboratory Automation*, vol. 20, no. 3, June 2015, pp. 201–15, doi:10.1177/2211068214557813.

³² Vaidya, Manasi. "Startups Tout Commercially 3D-Printed Tissue for Drug Screening." *Nature Medicine*, vol. 21, no. 1, 2015, p. 2, doi:10.1038/nm0115-2.

5.1.4. Recerca del càncer

Anteriorment, model en dues dimensions de tumors eren utilitzats en la recerca en contra del càncer. Però, tenien el desavantatge que no representaven l'entorn necessari a causa de l'absència de les interaccions que ocorren entre les cèl·lules en 3D.

Per aquests motius, la bioimpressió 3D ofereix uns grans avantatges per a recrear el medi on es localitza el càncer, i detectar de forma precisa els diferents tipus de cèl·lules i microcapil·lars on estudiar la metastasi. Un problema d'aquest mètode és que encara és molt nou.

5.2. GASTRONOMIA

Tot i no ser molt conegut entre el públic, la bioimpressió de qualsevol mena de menjar està arribant a ser tan popular que ja magnats com Bill Gates o la NASA hi estan invertint, a part de la grandiosa quantitat d'empreses que s'estan dedicant a la millora de les bioimpressores de menjar actual. Aquesta tecnologia està tan estesa mundialment fins al punt que és molt possible que, a partir de finals del 2020 en restaurants espanyols, hi pugui aparèixer carn impresa als menús.

Tot aliment amb el qual es pugui aconseguir una textura com el puré, uns exemples poden ser xocolata, formatge o patates triturades. Si l'aliment no té prou viscositat, sempre se li pot afegir ingredients com proteïna o sucre. Un cas més excepcional és la carn, ja que existeixen dos mètodes amb els quals es pot imprimir la carn:

- El primer és una alternativa vegana a la carn convencional de l'empresa amb seu a Barcelona NOVAMEAT. Aquesta tracta que el "filament" està compost de proteïnes vegetals extretes de l'arròs i pèsols, i el qual està dissenyat per a imitar les fibres musculars. El procés d'impressió tarda uns 20 minuts a un cost de 30 \$ per kilogram de bistec al contrari dels 17 \$ del bistec comú. Aquesta empresa té l'objectiu que la seva impressora arribi als restaurants a finals del 2020 i arribar a l'ús domèstic i de supermercats pel 2021³³.
- El segon s'origina de l'empresa JUST MEAT amb seu a San Francisco, Califòrnia. Té la intenció de crear a partir d'un cultiu cel·lular. Es tractaria d'aconseguir cèl·lules de l'animal de forma no invasiva, com ara podria ser una ploma, i fer-les créixer alimentant-les amb plantes. A més a més, aquest mètode també s'aplica als mariscs o a ous³⁴.

³³ Scionti, Giuseppe, et al. *Plant-Based Meat | NOVAMEAT | Barcelona*. <https://www.novameat.com/>. Accessed 4 Aug. 2020.

³⁴ Tetrick, Joshua. *JUST Meat | Meat Made More Efficiently*. <https://www.ju.st/en-us/stories/clean-meat>. Accessed 4 Aug. 2020.

Dins d'aquest àmbit de gastronomia, la bioimpressió 3D és molt prometedora a l'espai. Això és degut al fet que els astronautes no poden personalitzar, o fer ells mateixos les receptes del menjar que hauran d'ingerir durant la seva estada. I també pel fet que la bioimpressió ofereix la possibilitat d'augmentar i/o controlar els nutrients que ingeriran³⁵.

³⁵ NASA. *3D Printing: Food in Space* / NASA.
https://www.nasa.gov/directorates/spacetech/home/feature_3d_food.html. Accessed 4 Aug. 2020.

6. IMPRIMIBILITAT

La imprimibilitat és el terme que s'utilitza per a determinar el grau de qualitat amb el qual es pot imprimir una estructura amb èxit. Aquesta és mesurada tenint en compte els factors següents:

6.1. TEMPS *GELATION*

El temps *gelation* és la quantitat de temps en el qual un material passa d'estar en estat líquid a gel.

És una propietat important per a poder mantenir les estructures 3D que s'han imprès. Depenent del temps *gelation*, la fidelitat de la impressió pot variar. Per això, el temps *gelation* és un component important tant per l'aspecte físic com químic dels materials, significat així que si el temps *gelation* és massa curt o massa llarg pot conseqüències negatives per la bioimpressió (Fig. 7). Principalment afectaria com el filament es diposita damunt la plataforma. Si el temps és massa curt, el material és massa líquid i per tant, totes les línies es fondrien en una i no es podria establir cap forma. Al contrari, si el temps és massa llarg, el material és massa rígid i sec, i com a conseqüència, l'estructura no tingui la textura ni la forma adequada³⁶.

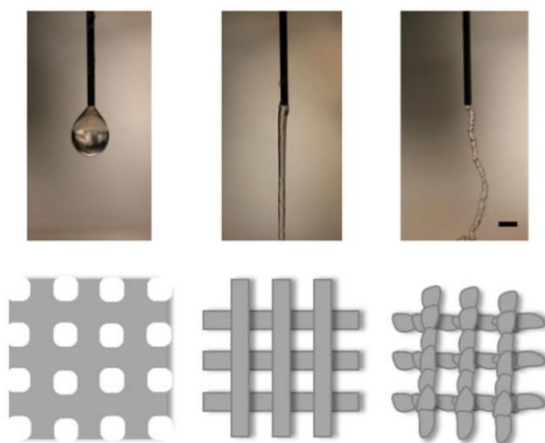


Fig. 7. Diferències en la biotinta depenent del seu temps *gelation*, a l'esquerra, el temps *gelation* és massa curt, fent que totes les línies es fonin en una, la del mig seria la correcta i a la dreta, el temps *gelation* és massa llarg, resultant en unes línies massa rígides i seques que no poden congeniar i que per tant, debiliten l'estabilitat de l'estructura.

³⁶ Ardebili, Haleh, et al. "Characterization of Encapsulant Properties." *Encapsulation Technologies for Electronic Applications*, no. 1, 2018, doi:10.1016/B978-0-12-811978-5.00006-7.

6.2. BIOCOMPTABILITAT

El terme biocompatibilitat es refereix a la capacitat o reacció dels biomaterials contra la resposta de l'amfitrió³⁷. Quan les estructures 3D impreses utilitzant hidrogels són trasplantades dins el cos de l'amfitrió com ara un animal o una persona, s'ha de considerar la compatibilitat d'aquest material amb el cos on residirà.

La biocompatibilitat és determinada a partir de diferents experiments, com ara:

6.2.1. Citotoxicitat

En aquest test avalua si el material que s'utilitzarà és tòxic per a cèl·lules vives. Aquests estudis també són útils per avaluar la potencial irritabilitat que pot ocasionar el material.

Existeixen tres tipus de tests; El procediment de contacte directe, la difusió d'agar i l'elució MEM.

En el procediment de contacte directe, una mostra del material és col·locada directament damunt un cultiu cel·lular i s'incuben. Durant el període d'incubació, si la mostra és tòxica, es difondrà al cultiu cel·lular ocasionant la malformació i degeneració de les cèl·lules. Aquest estudi és recomanat per als materials que tinguin una densitat baixa.

En la difusió d'agar, una capa fina d'agar amb nutrients és col·locada damunt un cultiu cel·lular, se li col·loca al damunt el material i després s'incuba. Una zona de cèl·lules mal formades o degenerades al voltant del material indica la toxicitat.

L'elució MEM utilitza un extracte del material, el qual es transferirà a un cultiu de cèl·lules. Després del període d'incubació, les cèl·lules seran observades microscòpicament per observar qualsevol signe de malformació o degeneració de les cèl·lules.

Aquests estudis ajuden a determinar si el material conté substàncies químiques que poden causar efectes adversos tant locals (només afecta una part del cos) com sistèmatics (afecta a tot el cos) després de repetida o llarga exposició, que són causats pel sistema immunitari.

6.2.2. Irritació

Aquests tests calculen la potencial irritació que pot causar el material utilitzant la pell o membranes mucoses del que seria normalment un model animal. Paràmetres que caldrà tenir en compte són la duració del contacte i quina part del cos hi estarà exposada. S'aconsella exagerar els resultats obtinguts per així establir un marge de seguretat per als pacients.

³⁷ Highley, Christopher B., et al. "Direct 3D Printing of Shear-Thinning Hydrogels into Self-Healing Hydrogels." *Advanced Materials (Deerfield Beach, Fla.)*, vol. 27, no. 34, Sept. 2015, pp. 5075–79, doi:10.1002/adma.201501234.

Els tests predominants que s'utilitzen per a avaluar-ho són el test intracutani i el test d'irritació primària.

En el test intracutani, una mostra del material és injectada de forma intradèrmica, això significa que és injectada a poca profunditat. Els llocs on s'hagi injectat són examinats per veure si mostren símptomes d'enrogiment i/o inflamació. S'utilitza per materials que tindran contacte amb l'interior del cos o amb fluids corporals.

El test d'irritació primària tracta d'agafar una mostra del material i aplicar directament a la pell durant 24 hores, després el material s'elimina i es busca si hi ha símptomes d'enrogiment i/o inflamació. Normalment aquest test s'aplica a material que tindran contacte extern amb la pell.

6.2.3. Toxicitat subcrònica

El test de toxicitat sistemàtica aguda detecta materials que produeixen efectes tòxics que afecten a tot el cos. S'efectua injectant el compost a un grup de ratolins i s'observa si mostren signes d'intoxicació just després de la injecció i en quatre intervals de temps.

6.2.4. Genotoxicitat

Les avaluacions de genotoxicitat utilitzen un seguit de tests *in vivo* (dins d'un organisme viu) i *in vitro* (en un entorn artificial) per a detectar mutàgens o substàncies que poden de forma directa o indirecta induir danys genètics.

Els efectes genotòxics es poden classificar en tres categories: mutacions en una seqüència d'ADN, danys a l'estructura general de l'ADN o danys a l'estructura del cromosoma.

El test que més s'utilitza per a detectar aquests efectes s'anomena el test d'Ames. Tracta d'utilitzar el bacteri *Salmonella typhimurium* per a indicar si el material és genotòxic gràcies al fet que aquests són molt sensibles als mutàgens.

6.2.5. Test d'implantació

Els estudis d'implantació determinen la biocompatibilitat de materials que estan en contacte directe amb qualsevol teixit que no sigui la pell.

Aquests estudis es basen en l'anàlisi histopatològic. Aquest tracta que el material es posi en contacte amb teixit viu i després d'un període de temps determinat, s'extreu el material i s'examina si el teixit ha experimentat qualsevol reacció immunològica.

6.3. VIABILITAT CEL·LULAR

La viabilitat cel·lular és una mesura que indica la proporció de cèl·lules vives i sanes que hi ha en un espai determinat. Els assajos de viabilitat cel·lular s'utilitzen per a determinar l'estat de salut de les cèl·lules o per a mesurar quin és el seu percentatge de supervivència quan se'ls hi aplica un tractament. Tests com el de citotoxicitat també es poden utilitzar per a mesurar-ho.

Usualment, aquests assajos es porten a terme mitjançant colorants vitals, com per exemple el iodur de propidi, amb el qual es poden distingir les cèl·lules necròtiques (mortes a causa d'un factor extern), apoptòtiques (mort programada) i normals. També es poden dur a terme mesurant l'activitat metabòlica, el contingut ATP o la proliferació cel·lular.

El terme proliferació cel·lular fa referència a l'increment de cèl·lules. Aquest és un signe de viabilitat perquè només les cèl·lules que són sanes es poden multiplicar. Això s'examina mesurant el contingut o la síntesi de nou ADN en les cèl·lules replicades durant un període de temps.

6.4. BIODEGRADABILITAT

La biodegradabilitat és una característica important per a les estructures fetes amb hidrogels. El procés de degradació d'aquests no hauria de produir ni substàncies tòxiques ni productes no degradables. Els components que es formen a partir de la biodegradació haurien de ser metabolitzats en productes indefensos pel cos o haurien de poder ser excretats.

Un altre aspecte a destacar és que la velocitat de degradació ha de ser proporcional a la velocitat de regeneració de teixit nou amb característiques similars al teixit que s'ha reemplaçat.

6.5. VISCOSITAT DEL MATERIAL

La viscositat es tracta de la resistència a fluir d'un material. En el nostre cas, si la viscositat no és adequada, pot afectar greument a la qualitat del producte. Per això és necessari establir-hi un equilibri. A continuació es detallarà com es pot deduir si la viscositat és l'adient.

Per començar, si hi ha excés de viscositat, es veurà com el procés d'impressió tarda més del que seria habitual. També un cop s'hagi acabat la impressió es podrà observar que les cèl·lules estant totes localitzades a la base de l'estructura en comptes d'estar repartides homogèniament. Aquest últim aspecte és degut al fet que si la impressió tarda massa, les cèl·lules tenen temps per a enfonsant-se.

En canvi, un pot denotar manca de viscositat necessària gràcies al fet que es pot observar fàcilment l'absència d'una estructura estable.

6.6. RESOLUCIÓ ESPACIAL

La resolució espacial tracta de la precisió d'una mesura respecte a l'espai. Aquesta característica és molt important en la biopressió, pel fet que els òrgans i teixits que es volen imprimir són molt complexes a escala microscòpica. És a dir, si es vol imprimir un òrgan/teixit que sigui funcional en un cos humà, cal que aquest sigui una còpia exacta del que s'ha intentat imprimir, i això només es podrà aconseguir si la resolució de la bioimpressora és la suficient, d'aquí que sigui una de les característiques que cal tenir en compte en construir una bioimpressora.

7. HIDROGELS

7.1. QUÈ ÉS UN HIDROGEL

Els hidrogels representen una classe de biomaterials que és comunament utilitzada en l'àmbit de l'enginyeria de teixits i en la medicina regenerativa com a *scaffold* gràcies a les seves propietats fisicoquímiques.

Els hidrogels són la reticulació³⁸ de xarxes de polímers amb característiques hidròfiles i insolubles. Això fa que exhibeixin una gran inflació un cop entren en contacte amb un medi aquós. I gràcies a la seva naturalesa tova i gomosa, assegura la mínima irritació dels teixits i evita que les cèl·lules i proteïnes s'adhereixin a la seva superfície.

7.2. RETICULACIÓ

La reticulació (també coneguda amb el nom de *crosslinking*) és la formació d'enllaços covalents que agrupen porcions d'un grup de cadenes de polímers³⁹(Vitz et al.). Això permet afectar a les propietats físiques del polímer que dependran del grau de reticulació. Aquesta tècnica s'utilitza per a crear biotintres, com ara l'agarosa, o hidrogels, tot i que també es pot utilitzar per a potenciar les característiques d'algun material com ara pot ser la goma.

L'objectiu de la reticulació és aconseguir les següents característiques:

- Elasticitat⁴⁰: Els hidrogels elastòmers⁴¹ són polímers elàstics creats a partir de *crosslinking* limitat. Això és perquè com més augmenta el nombre de reticulacions, el polímer es torna més rígid, menys viscos i més fràgil.

Un exemple és la vulcanització de la goma, on es reticulen cadenes d'àtoms de sulfur amb la goma natural per així fer-la més dura i resistent.

- L'augment de la viscositat dels polímers: Per tal que els polímers puguin fluir, les cadenes han de moure's, cosa que el *crosslinking* impedeix. Com a resultat de la restricció de fluïdesa, hi ha una millora en l'àmbit de deformació de fluència lenta⁴².
- La insolubilitat dels polímers: la reticulació resulta en insolubilitat perquè les cadenes estan molt unides entre si amb enllaços covalents. Tot i això, els materials reticulats tenen

³⁸ Per més informació en aquest concepte vagi a l'apartat 7.2.

³⁹Vitz, Ed, et al. 8.26: *Cross-Linking* - *Chemistry LibreTexts*. [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/General_Chemistry/Book%3A_ChemPRIME_\(Moore_et_al.\)/08%3A_Properties_of_Organic_Compounds/8.26%3A_Cross-Linking](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/General_Chemistry/Book%3A_ChemPRIME_(Moore_et_al.)/08%3A_Properties_of_Organic_Compounds/8.26%3A_Cross-Linking). Accessed 4 Aug. 2020.

⁴⁰ El fet de poder estirar-se i retornar a la seva forma original

⁴¹ Més informació a la pàgina 28.

⁴² Tendència d'un sòlid de moure's lentament o deformar-se permanentment després d'un perllongat estrès mecànic.

una gran capacitat d'absorció, quan aquesta absorció arriba a un punt alt, el material s'anomena gel. Un exemple és la poliacrilamida. En el seu estat original és soluble en l'aigua, i en el seu estat reticulat pot absorbir l'aigua però és insoluble.

- Transformació de termoplàstic (a temperatura ambient és rígid però si s'augmenta la temperatura és mal·leable) a termoset (no és possible alterar la forma): Un alt grau de *crosslinking* canvia els termoplàstics a termosets. Un cop s'ha format la reticulació, la forma del polímer ja no pot ser canviada sense destrossar el plàstic.
- Un punt de fusió més baix.
- Augment de la duresa i la força mecànica

7.3. MÈTODES DE RETICULACIÓ

Depenent de la naturalesa del polímer, diferents tècniques es poden utilitzar per al *crosslinking*. Les tècniques més comunes per unir les cadenes de polímers són:

- Irradiació: Normalment s'utilitzen rajos gamma en dosis petites i per parts grans i/o amb gran densitat gràcies al fet que és l'opció més econòmica. En canvi, per a parts petites i/o amb poca densitat s'utilitza un raig d'electrons.
- Vulcanització de sulfur: Ja mencionada anteriorment, tracta d'enllaçar cadenes d'àtoms de sulfur amb el material.
- Reaccions químiques conjuntament amb calor, i a vegades, pressió.

7.4. TIPUS D'HIDROGELS

Existeixen diferents tipus d'hidrogels depenent de la seva estructura, funció o propietats. L'ús d'aquests diferents tipus serà relatiu a quin tipus de cèl·lula o teixit s'implantarà. Per això, en la propera secció s'exposaran els diferents tipus d'hidrogels acompanyats de les seves propietats, desavantatges, estat de recerca i l'àrea d'aplicació en l'enginyeria de teixits.

7.4.1. Hidrogels elastòmers

Amb aquest tipus d'hidrogel s'intenta reproduir les característiques del teixits tous, com ara poden ser el seu contingut d'aigua o propietats mecàniques. Però, de moment encara no són capaços de replicar l'elasticitat d'aquests teixits. Això és degut a que els teixits són tan elàstics que els hidrogels a l'intentar copiar-ho s'acabin deformant. Per exemple, molts teixits tenen la

capacitat de respondre quan se'ls hi aplica pressió, fet que és difícil d'obtenir en materials elastòmers⁴³.

7.4.2. Hidrogels fotosensibles

Els hidrogels fotosensibles tenen la capacitat de fer un canvi reversible de les propietats químiques i físiques. Aquest canvi és generat o revertit gràcies a l'exposició a la llum.

Aquest tipus d'hidrogels tenen una gran varietat d'aplicacions dins de l'àmbit de l'enginyeria de teixits, els quals són preparats mitjançant la barreja d'hidrogel precursor que sigui reactiu a la llum i un fotoiniciador, que després serà exposada a la llum que iniciaria la reticulació⁴⁴.

Tot i que es pot utilitzar molt tipus d'ones de llum, la més utilitzada és la UV perquè indueix al fotoiniciador a activar els grups funcionals, els quals formaran enllaços covalents que crearan reaccions de reticulació. Conseqüentment, el polímer que no ha reaccionat es pot rentar un cop s'ha completat el procés de reticulació.

Tenen un gran nombre d'avantatges. Per exemple, donen la capacitat de poder modular el comportament cel·lular com és l'adhesió, proliferació i diferenciació⁴⁵. A més a més, aquest tipus és simple, ràpid de produir i econòmic.

Tot i això, l'exposició als rajos UV pot derivar a danys de l'ADN o funcions cel·lulars danyades, i la gelation in vivo és problemàtica pel fet que la llum no pot penetrar prou els teixits.

7.4.3. Hidrogels reforçats

Els hidrogels reforçats es poden definir com hidrogels barrejats amb altres materials per així potenciar les seves propietats químiques o físiques que modulen les funcions de les cèl·lules.

Ja que la reticulació d'un sol polímer no té les propietats mecàniques, físiques i biològiques adequades, els hidrogels reforçats va emergir com a una possible solució.

Dins d'aquesta categoria han sorgit diferents tipus d'hidrogels, com per exemple:

⁴³ Winer, Jessamine P., et al. "Non-Linear Elasticity of Extracellular Matrices Enables Contractile Cells to Communicate Local Position and Orientation." *PLOS ONE*, vol. 4, no. 7, Public Library of Science, July 2009, p. e6382, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006382>.

⁴⁴ Slaughter, Brandon V, et al. "Hydrogels in Regenerative Medicine." *Advanced Materials (Deerfield Beach, Fla.)*, vol. 21, no. 32–33, Sept. 2009, pp. 3307–29, doi:10.1002/adma.200802106.

⁴⁵ Gerecht, Sharon, et al. "Hyaluronic Acid Hydrogel for Controlled Self-Renewal and Differentiation of Human Embryonic Stem Cells." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 104, no. 27, July 2007, pp. 11298–303, doi:10.1073/pnas.0703723104.

El més simple seria els hidrogels de polímer compost com ara seria l'hidrogel alginat-compost. En aquest tipus s'han incorporat proteïnes que regulen la interacció de les cèl·lules⁴⁶ i les capacitats de l'alginat s'han millorat en afegir-hi un altre polímer⁴⁷.

També hi ha els hidrogels nanocompostos. En aquest tipus unes nanopartícules són dissenyades a partir d'un material (aquest tan pot ser un metall, un polímer, un semiconductor o un mineral) i li fan adoptar una forma concreta, com ara pot ser una esfera, un tub o una xarxa⁴⁸.

7.4.4. Hidrogels amb memòria de forma

Els hidrogels amb memòria de forma (SMHs) són una classe d'hidrogels que són capaços de canviar la seva forma quan són exposats a un estímul extern, com pot ser la temperatura o el pH tot que normalment s'utilitza el primer.

Un dels avantatges dels SMHs és que poden controlar les variables del polímer com ara són la mullabilitat⁴⁹, capacitat d'inflació⁵⁰, permeabilitat⁵¹ i les propietats que permeten la transició de sòlid a gel. Això és possible gràcies a les diferents combinacions d'enllaços no covalents en el sistema del SMHs.

Tal com s'ha mencionat, com que tenen l'habilitat que es poden controlar a partir d'un estímul extern, els SMHs que responen a canvis de temperatura es poden utilitzar com a mitjà de transport de molècules bioactives o factors de creixement. Un cop que el SMH s'hagi estimulat, aquest pot alterar la seva forma i atreure o alliberar un set de biomolècules predeterminat.

Gràcies a aquestes característiques, aquest tipus d'hidrogels es poden utilitzar en l'encapsulació de cèl·lules o factors de creixement.

⁴⁶ Hahn, Mariah S., et al. "Collagen Composite Hydrogels for Vocal Fold Lamina Propria Restoration." *Biomaterials*, vol. 27, no. 7, 2006, p. 1104—1109, doi:10.1016/j.biomaterials.2005.07.022.

⁴⁷ Baruch, Limor, and Marcelle Machluf. "Alginate-Chitosan Complex Coacervation for Cell Encapsulation: Effect on Mechanical Properties and on Long-Term Viability." *Biopolymers*, vol. 82, 2006, pp. 570–79, doi:10.1002/bip.20509.

⁴⁸ Wimpenny, Ian, and Mark Ahearne. "Portable Nanofiber Meshes Dictate Cell Orientation throughout Three-Dimensional Hydrogels." *Nanomedicine : Nanotechnology, Biology, and Medicine*, vol. 7, 2011, pp. 131–36, doi:10.1016/j.nano.2010.12.011.

⁴⁹ Gu, Jingxia, et al. "Programmable Delivery of Hydrophilic Drug Using Dually Responsive Hydrogel Cages." *Journal of Controlled Release : Official Journal of the Controlled Release Society*, vol. 117, no. 3, 2007, p. 396—402, doi:10.1016/j.jconrel.2006.11.029.

⁵⁰ Kopeček, Jindřich, and Jiyuan Yang. "Review - Hydrogels as Smart Biomaterials." *Polymer International*, vol. 56, 2007, pp. 1078–98, doi:10.1002/pi.2253.

⁵¹ Li, Yan, et al. "Thermoresponsive Gating Characteristics of Poly(N-Isopropylacrylamide)-Grafted Porous Poly(Vinylidene Fluoride) Membranes." *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 43, no. 11, American Chemical Society, May 2004, pp. 2643–49, doi:10.1021/ie034334j.

7.4.5. Hidrogels amb bio-resposta

Els hidrogels amb bio-resposta són uns biomaterials que poden canviar propietats. Quan un d'aquests hidrogels és exposat a un objectiu biològic (un nutrient, factor de creixement, anticòs, enzim o cèl·lula) crea interaccions moleculars que es converteixen en respostes macroscòpiques, com ara inflació o la transició de solució a gel.

Aquests tipus d'hidrogels són capaços d'alliberar de forma controlada factors biològics, canvis en propietats mecàniques, modificar la velocitat de degradació i controlar la migració cel·lular.

Totes aquestes propietats fan que siguin molt valuosos en l'àmbit de l'enginyeria de teixits, ja que es poden fer servir per:

- Proveir les cèl·lules d'estímul biomecànic per a induir una resposta constructiva⁵².
- Permetre la migració cel·lular dins l'hidrogel.
- Distribuir els factors de creixement.

7.5.APLICACIONS

En aquest document s'ha donat èmfasi en les aplicacions dels hidrogels en els àmbits de l'enginyeria de teixits i la recerca de fàrmacs. En aquest subapartat, es parlarà més detalladament de la funció dels hidrogels en els àmbits prèviament mencionats i altres aplicacions que tenen en l'actualitat.

Dins de l'àmbit de recerca, els hidrogels es poden aplicar al cultiu cel·lular de dues formes:

- Les cèl·lules es cultiven damunt del gel: L'hidrogel proveeix un substrat on les cèl·lules es podran unir i proliferar en un entorn 2D.
- Les cèl·lules es cultiven dins del gel: S'encapsulen les cèl·lules dins d'un gel 3D amb la intenció d'imitar un teixit natural o un micro-medi ambient.

La inflació de l'hidrogel facilita la transportació de nutrients dins i residus cel·lulars fora del gel. Proveeix un suport temporal on les cèl·lules es poden unir, créixer, proliferar, migrar i diferenciar cap a un teixit específic.

Altres aplicacions inclourien:

- Capes d'estabilització entre la terra i l'aigua per a estructures civils i/o agrícoles(Jensen and Hansen).

⁵² Sgambato, Antonella, et al. "Bioresponsive Hydrogels: Chemical Strategies and Perspectives in Tissue Engineering." *Gels (Basel, Switzerland)*, vol. 2, no. 4, Oct. 2016, doi:10.3390/gels2040028.

- Alliberament controlat de fertilitzants^{53, 54}.
- Segellat de cables de fibra i/o metàl·lics⁵⁵.
- Agents espessidors per a cosmètics⁵⁶.
- Productes d'higiene femenina i bolquers⁵⁷.

⁵³ Karadağ, Erdener, et al. "Swelling Studies of Copolymeric Acrylamide/Crotonic Acid Hydrogels as Carriers for Agricultural Uses." *Polymers for Advanced Technologies*, vol. 11, no. 2, John Wiley & Sons, Ltd, Feb. 2000, pp. 59–68, doi:10.1002/(SICI)1099-1581(200002)11:2<59::AID-PAT937>3.0.CO;2-Z.

⁵⁴ Chen, Peng, et al. "Synthesis of Superabsorbent Polymers by Irradiation and Their Applications in Agriculture." *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 93, no. 4, John Wiley & Sons, Ltd, Aug. 2004, pp. 1748–55, doi:10.1002/app.20612.

⁵⁵ Sun X, Zhang G, Shi Q, Tang B, Wu Z. *J. Appl. Polym. Sci.* 2002, pp. 3712–17.

⁵⁶ Kulicket W, Kull AH, Kull W, Thielking, Engelhardt HJ, Pannek J. *POLYMER*. 1996, pp. 37: 2723–2730.

⁵⁷ Warson, H. "Modern Superabsorbent Polymer Technology, Edited by F L Buchholz and A T Graham, Wiley-VCH, New York, 1998, PP Xvii + 279, ISBN Price £85.00." *Polymer International*, vol. 49, no. 11, John Wiley & Sons, Ltd, Nov. 2000, p. 1548, doi:10.1002/1097-0126(200011)49:11<1548::AID-PI482>3.0.CO;2-D.

8. PART PRÀCTICA (CONSTRUCCIÓ DE LA BIOIMPRESSORA)

8.1. MATERIALS

Els materials que es van utilitzar en aquest projecte són completament accessibles tan econòmicament com físicament per a qualsevol individu. Això significa que el model de bioimpressora que es descriurà a continuació, per ser més precís, un model de Reprap Prusa amb l'extrusor adaptat, té un preu de construcció del voltant de 170€ que facilitaria la seva reconstrucció en institucions de pocs recursos. Això és degut a que el preu mitjà d'una bioimpressora professional ronda entre 10.000€ i 200.000€.

Per a més informació del llistat de materials, el seu preu individual i on es troben disponibles per a comprar, vagi a l'annex I.

8.2. PREPARACIÓ PRÈVIA

Abans d'iniciar la construcció és necessari mencionar que la plataforma que s'utilitzarà en aquest model no segueix els estàndards habituals, significant així que tot el procés que es descriurà en aquest apartat és opcional i l'usuari és lliure de comprar el model rudimentari per internet.

En el meu cas, la plataforma es construirà a partir d'una taula de tallar que es pot adquirir en qualsevol botiga. Les mesures d'aquesta haurien de ser idealment entre 21 i 23 cm tant d'alçada com d'amplada, si aquest no és el cas, serà necessari tallar-ho amb les eines adequades.

Un cop es tingui la mida desitjada, s'hi hauran de tallar tres rectangles de 2,3 cm de llargada per 1,4cm d'amplada amb la distribució que es veu en la Fig. 8, ja que aquí serà on s'hi introduiran els rodaments. A continuació, al costat d'aquests rectangles s'hi perforen 4 forats paral·lels entre si on posteriorment s'hi col·locaran brides.

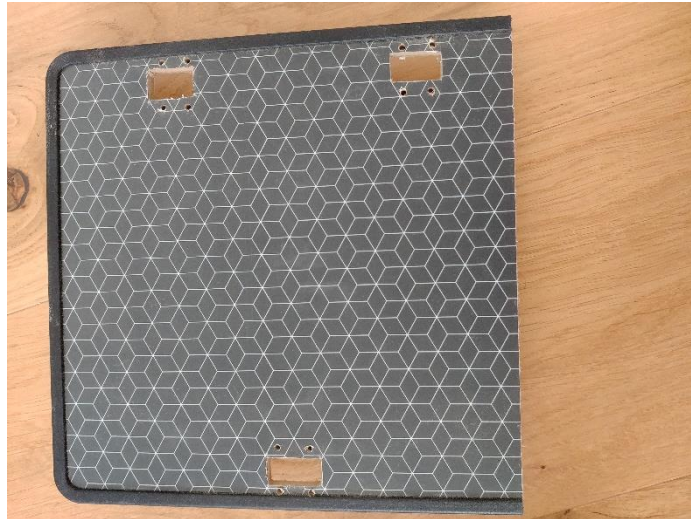


Fig. 8. La plataforma amb els forats mencionats prèviament.

També cal mencionar que totes les varetes s'han serrat manualment a la mida desitjada abans de començar.

8.3. PROCÉS DE CONSTRUCCIÓ

8.3.1. Axis-Y

Per començar, s'agafen les dues varetes roscades M10 i s'hi llisquen 2 femelles M10 i 2 volanderes M10 a cada extrem de les varetes, si es vol, s'hi pot afegir 2 femelles i 2 volanderes més al centre de la vareta per a donar-li més estabilitat. Seguidament, s'introdueix a cada extrem de la vareta un Y-corner i s'ajusta amb una volandera i una altra femella (Fig. 9).



Fig. 9. Peça Y-corner en un extrem d'una varilla roscada M10 fixada per 2 volanderes i 2 femelles M10.

Per una altra banda, s'agafa el Y-idler, se li col·loca el rodament 608ZZ i s'ajusta amb el caragol hexagonal (Fig. 10. 1.). Després, s'insereix una vareta roscada M8 i es fixa la posició de la peça al centre amb 2 volanderes M8 i 2 femelles M8 (Fig. 10. 2).

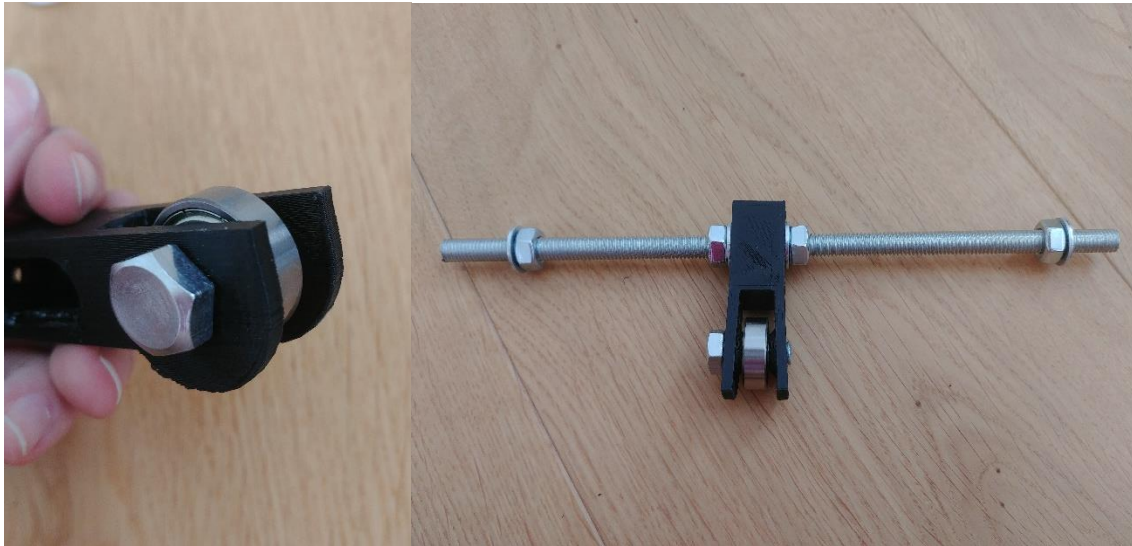


Fig. 10.1. Imatge mostrant com s'ha de muntar la peça Y-idler correctament. (Fig. 10.2.) Peça Y-idler completa ja muntada a la vareta roscada M8.

Mentrestant, també s'insereixen 2 varetes roscades M8 a l'altra peça utilitzant 2 volanderes i 2 femelles per vareta (Fig. 11.1.). Un cop acabat, s'insereixen les varetes als Y-corner de la següent forma (Fig. 11. 2.), fixant-ho amb més volanderes i femelles.

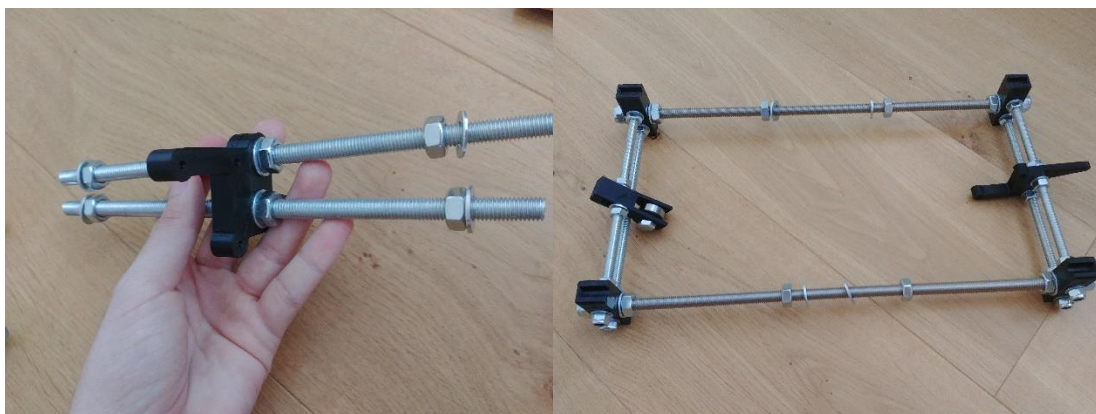


Fig. 11.1. Imatge exemplificant l'explicació. (Fig. 11.2.) Visualització de com s'han d'inserir les varetes.

A continuació, s'agafen les varetes llises M8, se'ls insereix 1 rodament LM8UU a una i a l'altra 2 (Fig. 12. 1.) i s'insereixen a la part de dalt del Y-corner (Fig. 12. 2.), completant el xassís de l'axis-Y.

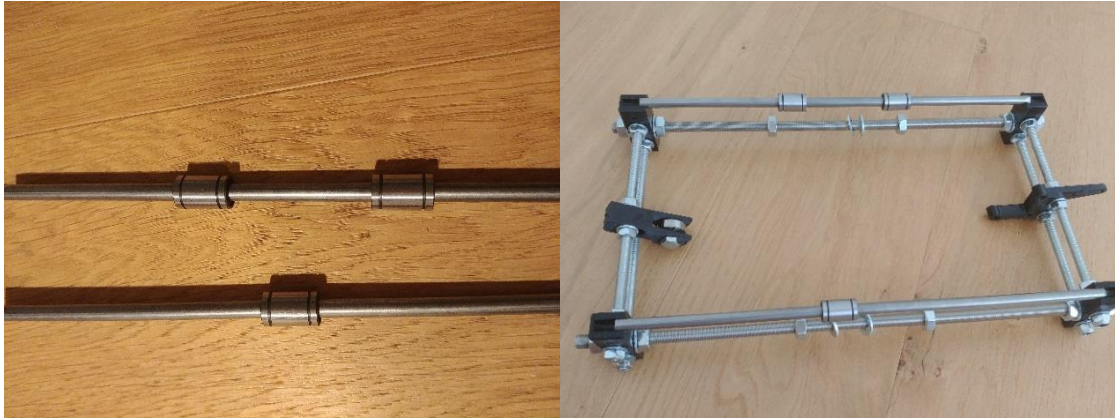
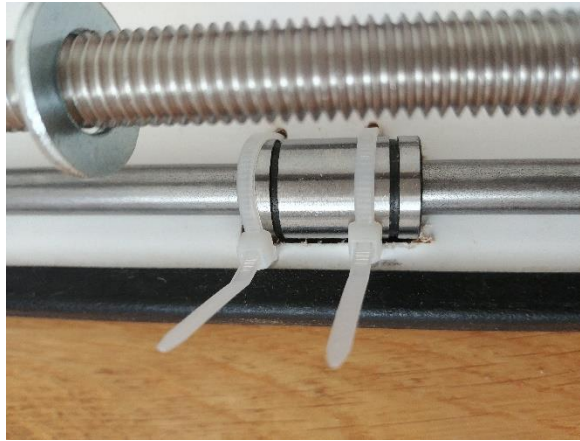


Fig. 12.1. Rodaments inserits dins les varetes llises M8. (Fig. 12. 2.) Xassís de l'axis-Y complet.

Per a col·locar la plataforma, serà necessari caragolar el Y-Belt holder al seu centre (Fig. 13.1.) i posar brides als forats que se li han fet prèviament (Fig. 13.2.). Tot seguit, es col·loca la plataforma damunt els rodaments LM8UU i s'ajusten les brides (Fig. 13.3.).



Fig. 13. 1. La plataforma amb la peça Y-Belt holder cargolada al centre. (Fig. 13. 2.) Imatge mostrant on s'han de col·locar les brides en la plataforma.



(Fig. 13. 3.) Fotografia mostrant com s'han d'ajustar les brides als rodaments LM8UU.

En acabat, es caragola el motor amb els caragols i volanderes M3, s'hi col·loca la politja i es munta la corretja (Fig. 14.). I per a finalitzar, es posa greix a les varetes llises per a reduir la resistència que poden patir els rodaments.



Fig. 14. Imatge mostrant com s'ha d'ajustar la politja a la peça Y-Belt holder utilitzant brides.

8.3.2. Axis-X

El seu procés de muntatge es pot dividir en 4 passes:

- Agafar les dues varetes llises i inserir-hi dos rodaments LM8UU a cadascuna i engreixar-ho.
- Agafar la peça X-End Idler i se li afegeix un rodament 624ZZ, el qual serà fixat per un cargol i la femella M3 (Fig. 15.).

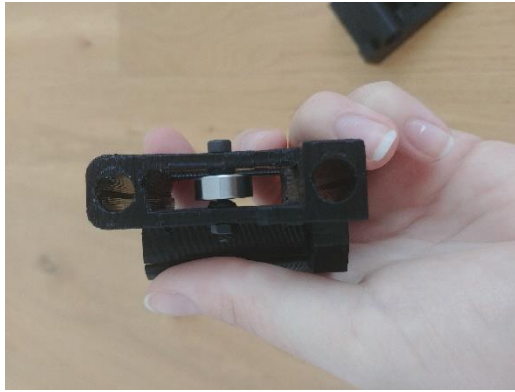


Fig. 15. Fotografia mostrant com s'ha col·locat el rodament 624ZZ dins la peça X-End idler.

- Inserir els extrems de les varetes als forats de les dues peces impreses (Fig. 16.).



Fig. 16. Imatge mostrant el resultat de la construcció final del xassís de l'axis-X.

- Muntar el motor a la peça X-End Motor amb l'ajuda de les volanderes i cargols M3 restants, i ajustar la politja a l'extrem del motor (Fig. 17.).

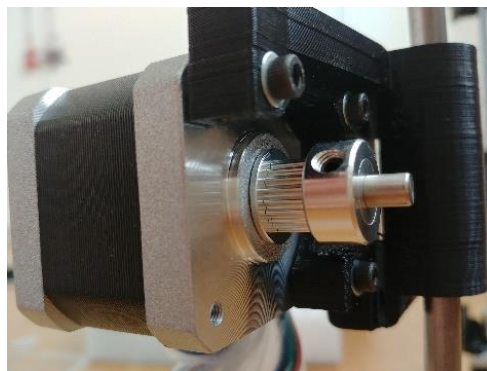


Fig. 17. Motor NEMA 17 muntat a l'extrem esquerra de l'axis-X.

8.3.3. Axis-Z

Abans de començar la construcció, cal esmentar que serà necessari que l'axis-X s'hagi construït prèviament.

Aquest procés també consisteix en només 4 passes:

- Introduir 2 rodaments LM8UU a les peces de l'axis-x (Fig. 18.).



Fig. 18. Rodaments LM8UU inserits dins la peça X-End idler.

- Inserir una vareta llisa M8 engraixada dins dels rodaments i una vareta roscada M5 al seu costat (Fig. 19.).

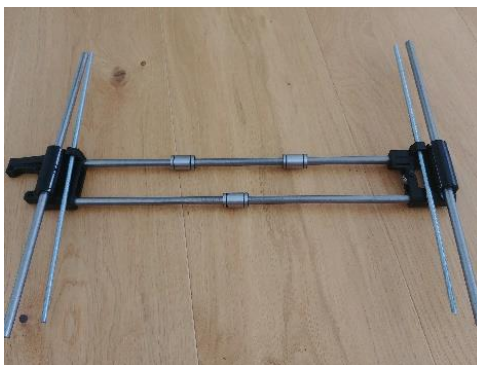


Fig. 19. Les 2 varetes M5 i M8 inserides al xassís de l'axis-X.

- Afegir les peces Z-Top i Z-Bottom als extrems de les varetes, les quals seran Left (esquerra) o Right (dreta) depenent del cantó (Fig. 20.).



Fig. 20. Imatge mostrant les peces Z-Top i Z-Bottom als seus corresponents llocs.

- Muntar els motors NEMA a les peces Z-Bottom, tenint present que el cablejat del motor cal que estigui encarat cap a dins de l'estructura, utilitzant els cargols i volanderes M3 (Fig. 21.1.). I afegir un acoblador flexible a l'extrem dels motors (Fig. 21. 2.).

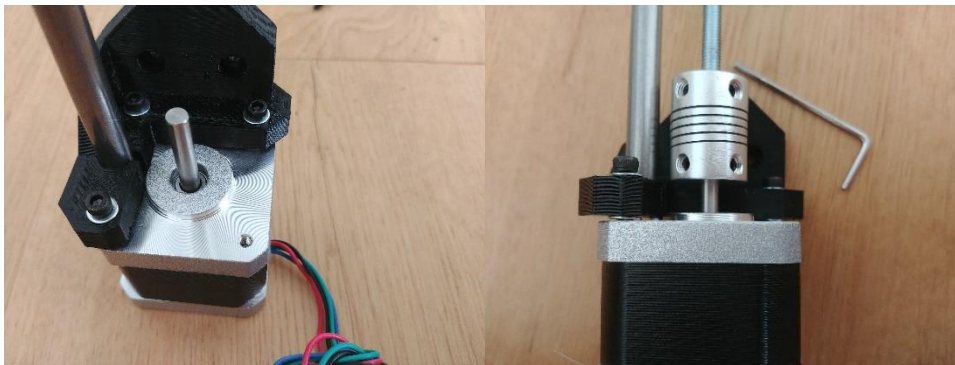


Fig. 21. 1. Motor NEMA 17 muntat a l'extrem esquerra de l'axis-Z. (Fig. 21. 2.) Acoblador flexible unint la vareta roscada M5 amb el motor.

8.3.4. Extrusor

A l'extrusor és on es troba la xeringa encarrega d'imprimir el material. Aquest model està basat en el model NOSE (Nydus One Syringe Extruder)⁵⁸.

Primer de tot, s'introdueix 2 rodaments a cada obertura lateral de la peça impresa Press i el maneguet hexagonal a l'obertura central (Fig. 22.).

⁵⁸ Bessler, Nils, et al. "Nydus One Syringe Extruder (NOSE): A Prusa I3 3D Printer Conversion for Bioprinting Applications Utilizing the FRESH-Method." *HardwareX*, vol. 6, The Authors, 2019, p. e00069, doi:10.1016/j.ohx.2019.e00069. (Utilitzat per a definir adequadament una bioimpressora)

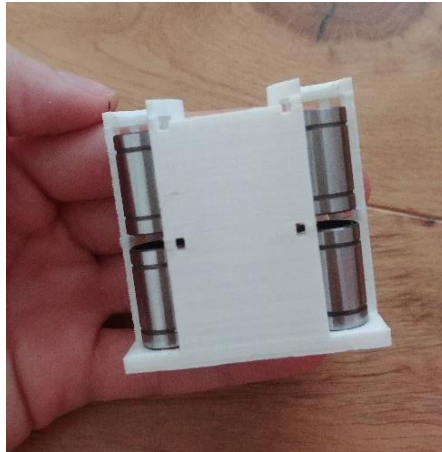


Fig. 22. Fotografia mostrant com s'han de col·locar els rodaments LM6UU dins la peça.

Per altra banda, es munta el motor a la peça Servo Mount utilitzant els cargols de 12mm i femelles M3 (Fig. 23. 1.), i s'ajunten les peces X-Carriage i Adapter mitjançant 2 femelles i 2 cargols de 20mm M3 (Fig. 23. 2.).

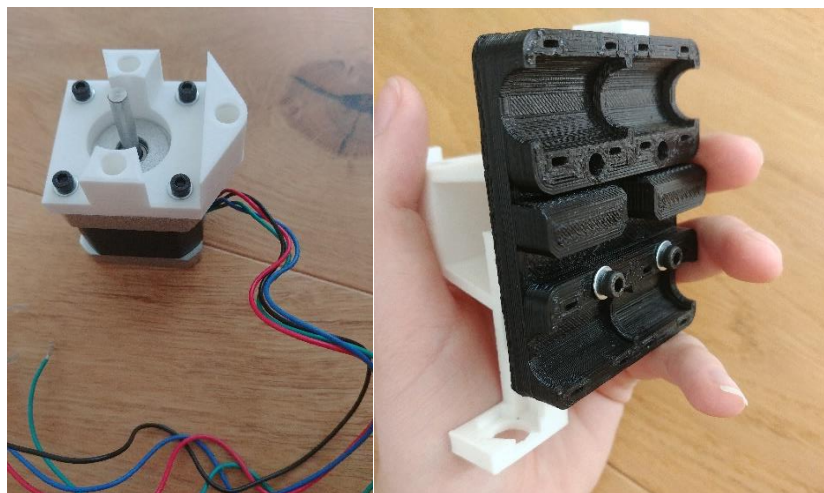


Fig. 23. 1. Motor ja muntat a la peça Servo Mount. (Fig. 23. 2.) Peces X-Carriage i Adapter ja unides.

En acabat, es connecta els extrems de les 3 varetes llises al Servo Mount de forma que les dues varetes de 205mm siguin paral·leles. A continuació, s'engreixen les dues varetes més llargues, se'ls inserta la peça Press (Fig. 24. 1.) i s'hi ajunta la peça Adapter als extrems de les 3 varetes (Fig. 24. 2.).

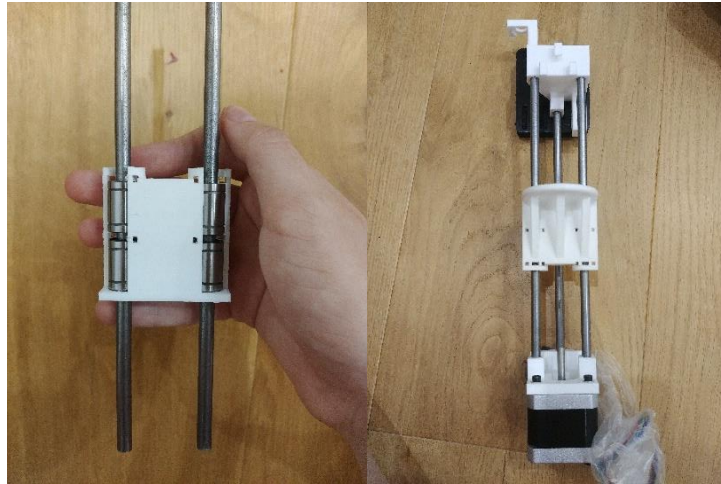


Fig. 24. 1. Varettes llises M6 inserides dins els rodaments. (Fig. 24. 2.) Imatge mostrant en quin sentit han d'estar les peces muntades.

Tot seguit, es col·loca la vareta roscada M8 a dins de el maneguet hexagonal, connectant un dels extrems al motor mitjançant un acoblador flexible (Fig. 25.).

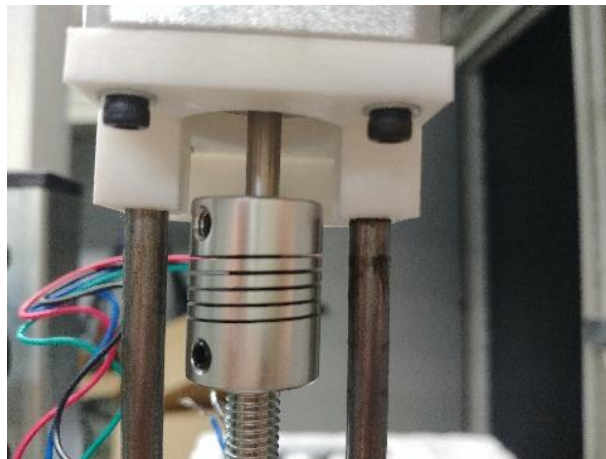


Fig. 25. Acoblador flexible de 6mm a 8mm ajuntat la vareta roscada M8 i el motor.

I finalment, es col·loca la X-Carriage per damunt dels 4 rodaments de l'Axis-X, es lliguen amb brides (Fig. 26. 1.) i s'instal·la la corretja (Fig. 26. 2.). Per a imprimir, només caldrà ajuntar la Syringe holder amb l'Adapter i inserir-hi una xeringa.

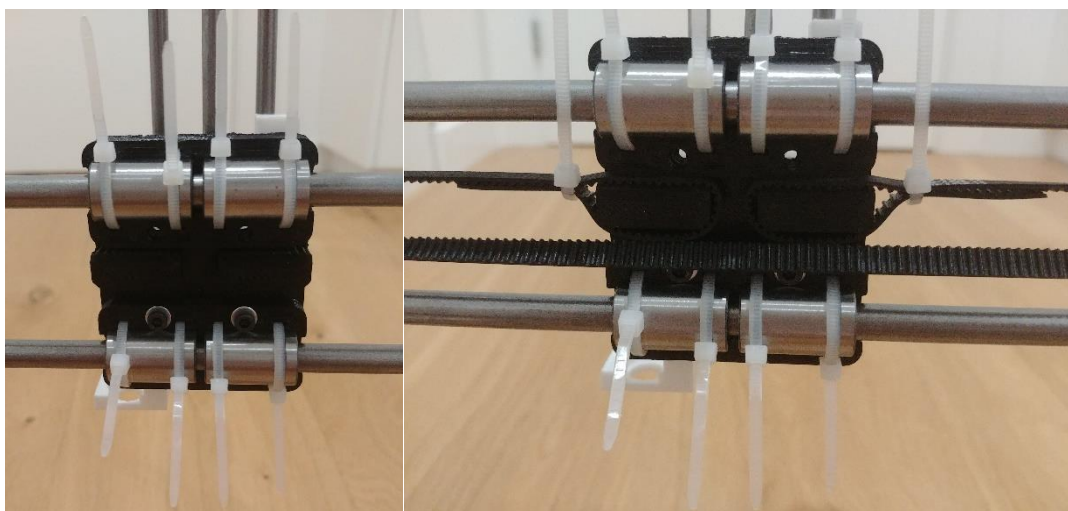


Fig. 26. 1. Fotografia que indica com s'uneix l'axis-Z amb l'axis-X. (Fig. 26. 2.) Imatge exhibint com s'uneix la corretja a l'axis-Z.

8.3.5. Endstops

Primer de tot, es cargolen els endstops als endstop holders. Seguidament, es col·loquen els endstops en les següents localitzacions (Fig. 27.). Depenent de l'axis on es col·locarà l'endstop, caldrà ajustar com es posicionarà al endstop holder (recte o inclinat), això significa que pot ser necessari utilitzar alguna brida per a fer la posició estable tot i que no va ser el meu cas.

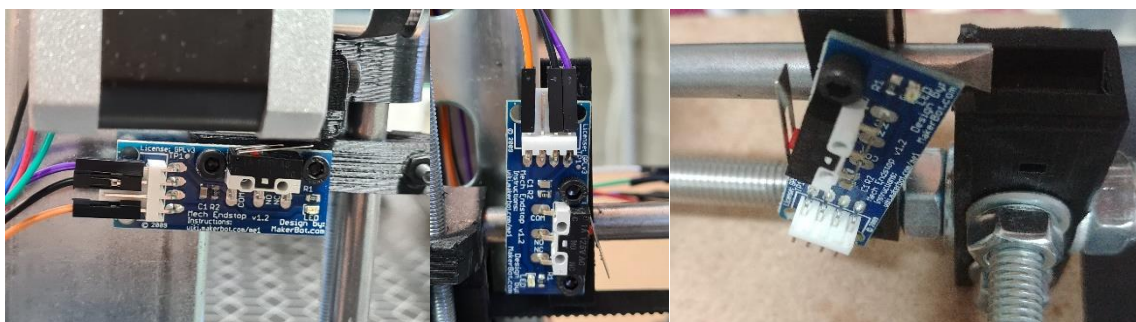


Fig. 27. Fotografies que indiquen on s'han de col·locar els endstops de la forma més eficient.

8.3.6. Hardware

Abans de tot, es necessari establir on estarà localitzat el hardware i garantir que tots els cables dels motors i endstops arribin al lloc designat, si no és el cas, caldrà connectar-hi més cables o canviar el cable per un de més longitud.

Primer de tot, s'ajunten la placa arduino 2560 amb la RAMPS 1.4 de forma que no es puguin veure els pins⁵⁹ (Fig. 28. 1.). A continuació, es col·loquen els jumpers en els espais següents (Fig. 28. 2.), al damunt es col·loquen els drivers de forma que la rodona platejada estigui en aquesta posició (Fig. 28. 3.) i a damunt del xip del drivers es situen els dissipadors de calor (Fig. 28. 4.).

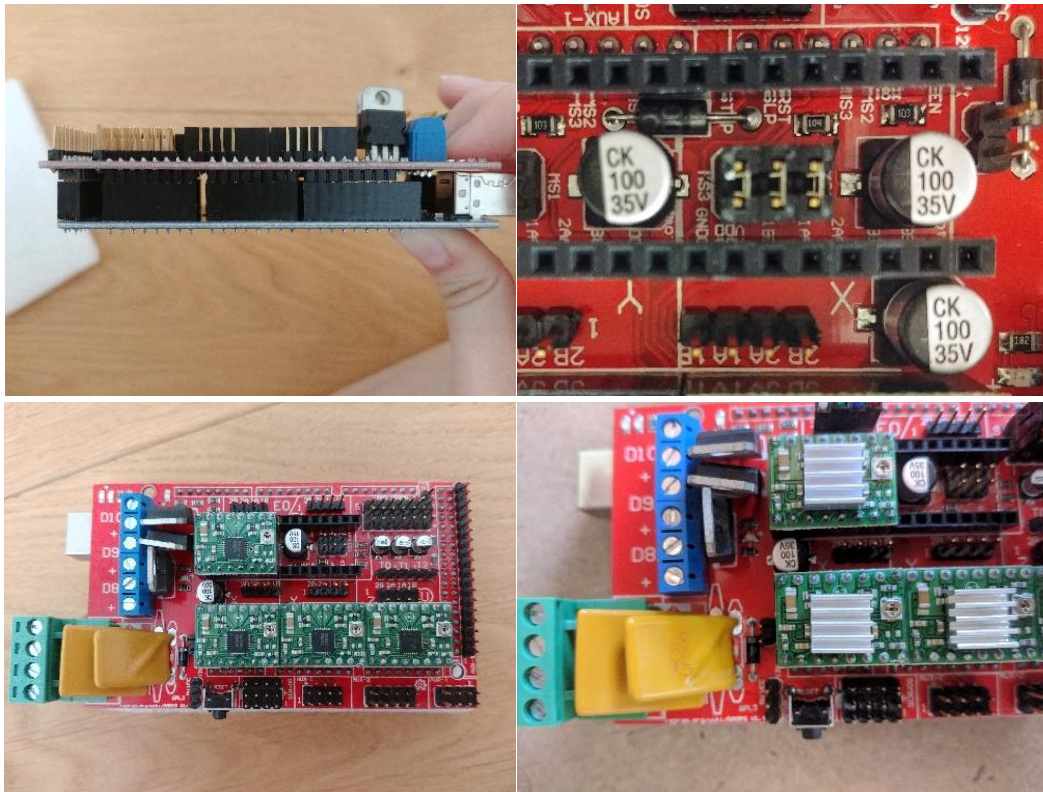


Fig. 28. 1. Es mostra com han d'estar unides la placa RAMPLA i la placa arduino. (Fig. 28. 2.) Lloc on s'han de col·locar els jumpers. (Fig. 28. 3.) Imatge mostrant com es col·loquen els drivers correctament. (Fig. 28. 4.) Els dissipadors de calor empegats als drivers.

En acabat, es connecten els motors i els endstops en els espais següents (Fig. 29. 1. i Fig. 29. 2.), i en el cas dels endstops, en aquest ordre de colors (Fig. 29. 3.).

⁵⁹ Part daurada o platejada que serveix d'enllaç per a connectar components electrònics com ara plaques, drivers o cables.

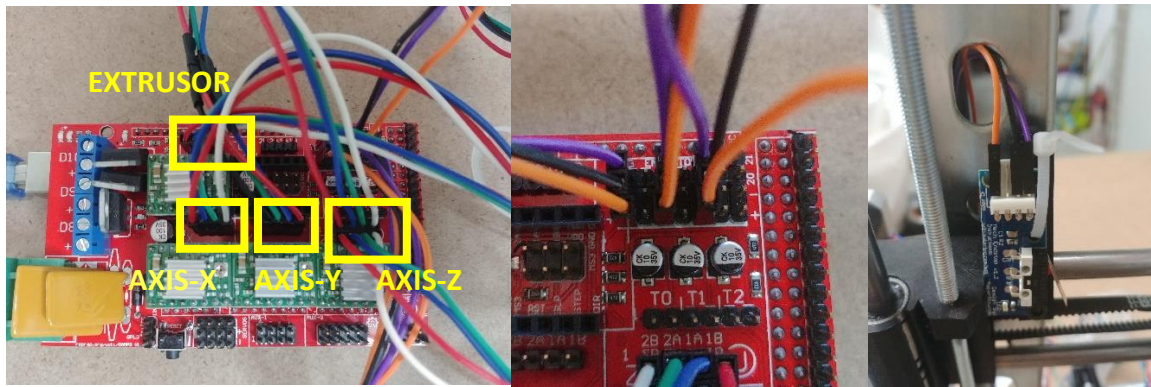


Fig. 29. 1. Fotografia indicant a on s'han de connectar els cables dels motors. (Fig. 29. 2.) Fotografia indicant a on s'han de connectar els cables dels endstops. . (Fig. 29. 3.) Ordre de cables de l'endstop.

I finalment, es connecta la font d'alimentació a la placa. Per a connectar-ho correctament és necessari connectar el cable que es connecti a L (normalment blau) estarà connectat a la xarxa elèctrica, el de N (marró) és el neutre de la xarxa elèctrica i el de Masa (verd o groc) es connecta a terra (Fig. 30. 1.). Els dos COM (negre) i V+ (roig) es connectaran a la placa de la següent forma (Fig. 30. 2.).

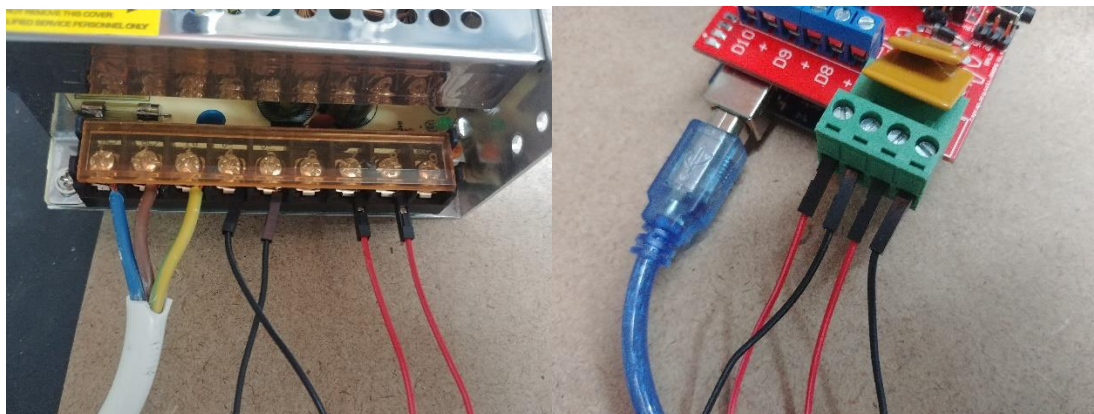


Fig. 30. 1. Imatge mostrant on s'han de connectar els cables. (Fig. 30. 2.) Fotografia indicant com s'han de connectar els cables COM i V+.

8.3.7. Software

Únicament es necessari descarregar primer de tot el programa Arduino IDE i el firmware anomenat “Marlin”, al qual cal fer-li les següents modificacions (Fig. 31):

```

#define PREVENT_COLD_EXTRUSION
#define EXTRUDE_MINTEMP 0
*/
#define TEMP_SENSOR_0 -1
#define TEMP_SENSOR_1 0
#define TEMP_SENSOR_2 0
#define TEMP_SENSOR_3 0
#define TEMP_SENSOR_4 0
#define TEMP_SENSOR_5 0
#define TEMP_SENSOR_6 0
#define TEMP_SENSOR_7 0
#define TEMP_SENSOR_BED 0
#define TEMP_SENSOR_PROBE 0
#define TEMP_SENSOR_CHAMBER 0

// Mechanical endstop with COM to ground and NC to Signal uses "false" here (most common setup).
#define X_MIN_ENDSTOP_INVERTING true // Set to true to invert the logic of the endstop.
#define Y_MIN_ENDSTOP_INVERTING true // Set to true to invert the logic of the endstop.
#define Z_MIN_ENDSTOP_INVERTING true // Set to true to invert the logic of the endstop.
#define X_MAX_ENDSTOP_INVERTING true // Set to true to invert the logic of the endstop.
#define Y_MAX_ENDSTOP_INVERTING true // Set to true to invert the logic of the endstop.
#define Z_MAX_ENDSTOP_INVERTING true // Set to true to invert the logic of the endstop.
#define Z_MIN_PROBE_ENDSTOP_INVERTING true // Set to true to invert the logic of the probe.

// Mechanical endstop with COM to ground and NC to Signal uses "false" here (most common setup).
#define X_MIN_ENDSTOP_INVERTING true // Set to true to invert the logic of the endstop.
#define Y_MIN_ENDSTOP_INVERTING true // Set to true to invert the logic of the endstop.
#define Z_MIN_ENDSTOP_INVERTING true // Set to true to invert the logic of the endstop.
#define X_MAX_ENDSTOP_INVERTING true // Set to true to invert the logic of the endstop.
#define Y_MAX_ENDSTOP_INVERTING true // Set to true to invert the logic of the endstop.
#define Z_MAX_ENDSTOP_INVERTING true // Set to true to invert the logic of the endstop.
#define Z_MIN_PROBE_ENDSTOP_INVERTING true // Set to true to invert the logic of the probe.

```

Fig. 31. Conjunt de modificacions que cal fer al firmware Marlin si es desitja que tot funcioni correctament.

Si l'endstop de l'axis-Y està situat a la part del darrere, també serà necessari fer les següents modificacions al firmware (Fig. 32):

```

// Direction of endstops when homing; 1=MAX, -1=MIN
// :[-1,1]
#define X_HOME_DIR -1
#define Y_HOME_DIR 1
#define Z_HOME_DIR -1

// Specify here all the endstop connectors that are connected to any endstop or probe.
// Almost all printers will be using one per axis. Probes will use one or more of the
// extra connectors. Leave undefined any used for non-endstop and non-probe purposes.
#define USE_XMIN_PLUG
//define USE_YMIN_PLUG
#define USE_ZMIN_PLUG
//define USE_XMAX_PLUG
#define USE_YMAX_PLUG
//define USE_ZMAX_PLUG

```

Fig. 32. Modificacions opcionals del firmware

En acabat, cal descarregar el programa “Pronterface”, el qual s’encarregarà de la impressió i el programa “Slicer”, amb el qual pots crear els models que vols imprimir.

8.3.8. Biotinta

La biotinta que s'utilitzarà per a la bioimpressió és un barreja d'alginat de sodi i gelatina diluïda en aigua destil·lada. Per a saber quina és la proporció d'aquests tres elements m'he basat en aquest article(Shi), el qual experimenta amb 3 tipus de proporcions i si després cal un bany de clorur de sodi per a estabilitzar la figura impresa.

En el estudi, la proporció que diuen que és més adequada és de cada 50g de biotinta 1,205g són d'alginat, 1,205g són de gelatina i la resta l'aigua. Per si de cas, he dut a terme uns experiments pel meu compte per demostrar si aquests resultats són certs.

En aquest experiment, he realitzat la biotinta amb les 3 proporcions de l'article (1:4, 1:1 i 4:1) i els he posat en diferents motlles per veure quin adopta la forma més acuradament (Fig. 33. 1.). Per a la meua sorpresa, els resultats que he obtingut són diferents als de l'estudi, en el meu experiment la proporció de 2g de gelatina i 0,5g d'alginat és el que ha donat millor resultats per una gran diferència (Fig. 33. 2.).



Fig. 33. 1. Motlles utilitzats en l'experiment. (Fig. 33. 2.) Resultat de l'experiment.

Degut a això, la proporció utilitzada per la bioimpressió consistirà de 2g de gelatina, 0,5g d'alginat de sodi i 47,5g d'aigua destil·lada.

També cal mencionar que l'estructura obtindrà millors resultats si la superfície on es col·loca ha estat prèviament refredada en un congelador i la biotinta està a una temperatura d'aproximadament 23C°.

8.3.9. Estructura

La estructura triada per la construcció constaria de només una base de fusta aglomerada de 40x80cm (Fig. 34. 1.) i uns suports d'acer de 40cm d'alçada per a subjectar l'axis-Z (Fig. 34.

2.). Per a muntar-li l'únic que es necessita fer és cargolar el suport a la base de fusta (Fig. 34. 3.) i després cargolar l'axis-Z al suport.

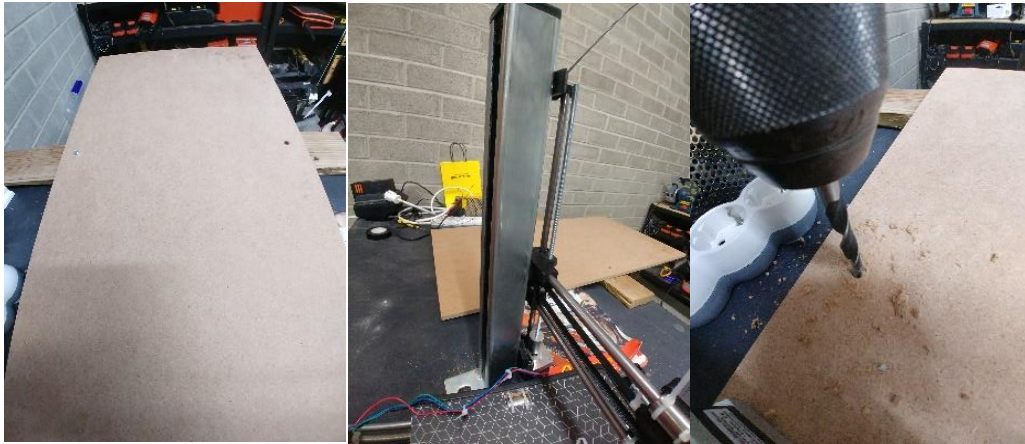


Fig. 34. 1. Imatge mostrant la base de fusta. Fig. 34. 2. Fotografia mostrant el suport d'acer. Fig. 34. 3. Perforadora fent el forat on es cargolarà el suport a la base de fusta.

9. RESULTATS

El resultat de tot aquest procés de construcció, tal com s'ha mencionat prèviament és la bioimpresora, la qual es pot apreciar en la Fig. 35:

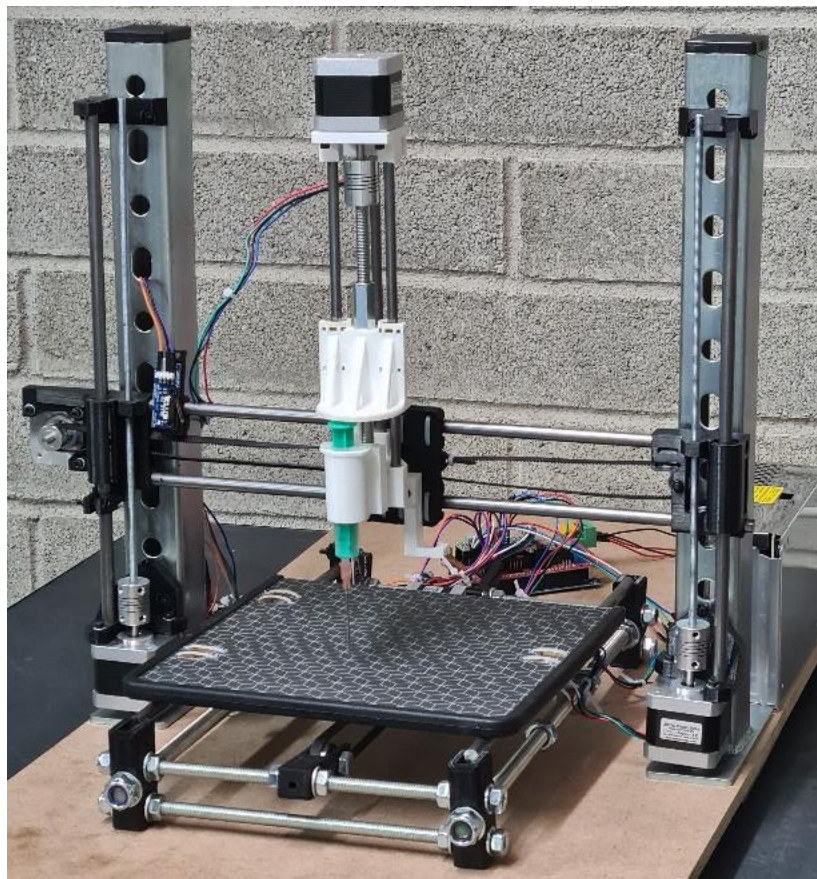


Fig. 35. Bioimpresora 3D completada.

Dins d'aquest apartat, també es mencionaran els objectes que s'han aconseguit imprimir amb la bioimpresora.

Primer de tot, es va començar per unes estructures molt simples que es van utilitzar com a mesura de calibratge. El que determina si un objecte és senzill d'imprimir ve determinat per la mida i la complexitat de les formes, per això es van buscar objectes que no fossin complexes, que en aquest cas van ser un cub de 20mm (Fig. 36) i una làmina de 5mm de grossor.

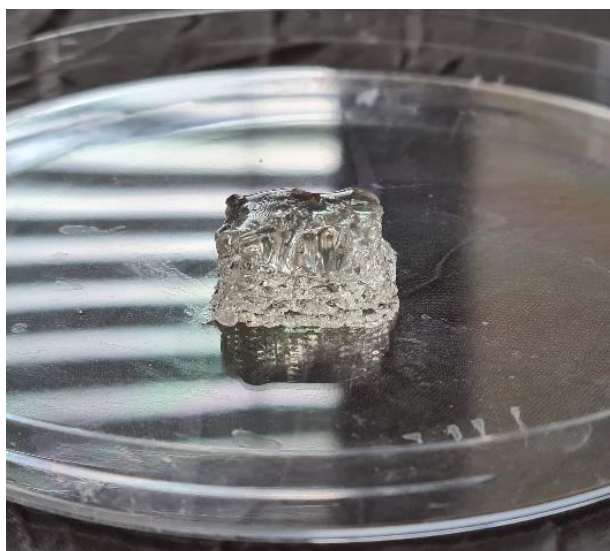


Fig. 36. Cub bioimprès damunt una placa de petri.

Un cop demostrat que la impressió no tenia cap error, es va intentar avançar a figures més complexes, com ara el model d'una orella humana (Fig. 37). Tot i que encara cal fer unes quantes modificacions per aconseguir la perfecció, el fet d'haver aconseguit imprimir un objecte que s'assembli a un model tan detallat com ara és una part del cos humà, fa que poguem concloure que els resultats són exactament els que es desitjaven obtenir des de bon principi.

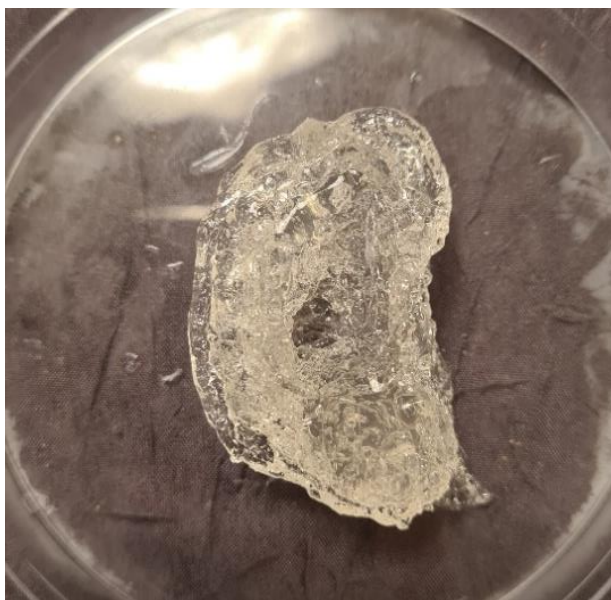


Fig. 37. Orella bioimpresa.

10. CONCLUSIONS

Aquest treball ha assolit tots els objectius prèviament mencionats, els quals s'han complert de la següent manera:

- El primer el qual era entendre com funciona una bioimpressora 3D i amb què es diferencia d'altres tipus d'impressores 3D. Aquest s'ha complert amb la recerca que s'ha fet a la part teòrica, ha envoltat al concepte bàsic de com funciona una bioimpressora al tractar cadascun dels seus mecanismes i amb quins paràmetres funciona. Gràcies a això, també s'ha pogut descobrir quina és la diferència entre aquest tipus i una impressora 3D convencional, la qual és l'extrusor.
- Ser capaç de construir-ne una de pròpia. Aquest segon objectiu es va assolir en la part pràctica, en la qual es va poder construir una bioimpressora amb materials que qualsevol individu podria obtenir.
- Aportar una alternativa de bioimpressora menys cara per a aquells països en vies de desenvolupament que no s'ho puguin permetre i per a que es pugui normalitzar aquesta tecnologia arreu del món. Aquest últim objectiu es localitzaria sobretot en l'annex I i l'apartat de materials, el qual demostra que els materials utilitzats són econòmicament accessibles per tothom, i per tant, que aquest model de bioimpressora es podria utilitzar en països i institucions de menys recursos.

Tot i l'assoliment de tots els objectius plantejats, durant el procés de creació d'aquest treball de recerca em vaig trobar uns quants inconvenients que van dificultar la construcció de la bioimpressora.

El primer va ser la tria del model amb el qual em basaria per a construir-ho tot, ja que el model inicial en el que em basava va ser descartat poc menys d'un mes després d'haver fet la tria del tema del treball, això és degut que aquell model era més arcaic i tenia bastants problemes quan es construïa algun objecte que no fos 2D. El següent model que vaig considerar també va ser descartat temps després, el motiu d'aquest descart va ser més aviat per practicitat, al poder observar que l'adquisició de les peces necessàries i el seu conseqüent muntatge ofería més dificultat que beneficis. Afortunadament, el tercer model no presentava cap d'aquestes dificultats, d'aquí que sigui el model utilitzat.

El segon va tenir relació amb els materials. Per una banda, l'adquisició dels materials no va ser ràpida, per ser més precís, vaig tardar més d'un mes en poder obtenir tot els materials necessaris. Això va ser degut a que la gran majoria d'aquests no estaven disponibles en botigues de Lleida, i que per tant, s'havien de comprar en botigues online o també perquè fins i tot per internet eren difícils de localitzar. Cal mencionar per a intentar solucionar aquest problema, vaig desmuntar una impressora vella per a veure si podia reutilitzar algunes peces, cosa que al final no va poder ser possible.

Per altra banda, en algunes ocasions el material que suposadament s'havia d'utilitzar no ho era per algun detall insignificant. Per exemple, les varetes que s'han utilitzat per la construcció en cap cas poden ser d'alumini, sinó que han de ser d'acer, el motiu d'això és el fet que, sorprenentment, el diàmetre de la vareta no es mesurat de la mateixa forma. O sigui, 8mm de diàmetre en una vareta d'alumini són més grans que 8mm de diàmetre en una vareta d'acer, cosa que impedia que els rodaments poguessin ser inserits correctament.

I per últim, el calibratge i la impressió en si. El calibratge havia de ser tant precís que es van necessitar molts intents per a arribar a perfeccionar-lo. Per altra banda, la biotinta necessitava estar al voltant d'una temperatura molt concreta, cosa que va requerir també diversos intents per a descobrir.

Per a concloure, els resultats d'aquesta recerca han estat bastant prometedors. El producte acabat compleix tots els estàndards de qualitat que havia establert anteriorment, encara que dista molt d'aconseguir els criteris d'un laboratori professional. A més a més, tenir un resultat tan desitjable d'un pressupost tan baix pot conduir al desenvolupament d'impressores més disponibles econòmicament. En altres paraules, aquesta recerca podria ser d'ajuda en fer que l'accés a aquesta tecnologia sigui més accessible per a tothom.

BIBLIOGRAFIA

- 3D *Bioprinting: Bioink Selection Guide* / Sigma-Aldrich. <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/materials-science/3d-bioprinting-bioinks.html>. Accessed 3 Aug. 2020. (Utilitzat per a definir adequadament una bioimpressora)
- Abelardo, E. "Synthetic Material Bioinks." *3D Bioprinting for Reconstructive Surgery*, Elsevier Ltd., 2018, doi:10.1016/B978-0-08-101103-4.00009-0. (Menciona quins tipus de biotintes sintètics s'utilitzen per la bioimpressió)
- Ardebili, Haleh, et al. "Characterization of Encapsulant Properties." *Encapsulation Technologies for Electronic Applications*, no. 1, 2018, doi:10.1016/B978-0-12-811978-5.00006-7.
- Baruch, Limor, and Marcelle Machluf. "Alginate-Chitosan Complex Coacervation for Cell Encapsulation: Effect on Mechanical Properties and on Long-Term Viability." *Biopolymers*, vol. 82, 2006, pp. 570–79, doi:10.1002/bip.20509.
- Bessler, Nils, et al. "Nydus One Syringe Extruder (NOSE): A Prusa I3 3D Printer Conversion for Bioprinting Applications Utilizing the FRESH-Method." *HardwareX*, vol. 6, The Authors, 2019, p. e00069, doi:10.1016/j.ohx.2019.e00069. (Utilitzat per a definir adequadament una bioimpressora)
- Biocompatibility Test Methods - Pacific BioLabs*. <https://pacificbiolabs.com/biocompatibility-test-methods>. Accessed 3 Aug. 2020. (Defineix el terme de biocompatibilitat i enumera els diferents experiments que s'utilitzen per analitzar el grau de biocompatibilitat)
- Bose, Susmita, et al. "Bone Tissue Engineering Using 3D Printing." *Materials Today*, vol. 16, Dec. 2013, pp. 496–504, doi:10.1016/j.mattod.2013.11.017.
- Chen, Peng, et al. "Synthesis of Superabsorbent Polymers by Irradiation and Their Applications in Agriculture." *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 93, no. 4, John Wiley & Sons, Ltd, Aug. 2004, pp. 1748–55, doi:10.1002/app.20612.
- Desimone, Elise, et al. "Biofabrication of 3D Constructs: Fabrication Technologies and Spider Silk Proteins as Bioinks." *Pure and Applied Chemistry*, vol. 87, no. 8, 2015, pp. 737–49, doi:10.1515/pac-2015-0106. (Utilitzat per a definir adequadament una bioimpressora)
- El-Sherbiny, Ibrahim M., and Magdi H. Yacoub. "Hydrogel Scaffolds for Tissue Engineering: Progress and Challenges." *Global Cardiology Science and Practice*, vol. 2013, no. 3, 2013, p. 38, doi:10.5339/gcsp.2013.38.
- Fedorovich, Natalja E., et al. "Biofabrication of Osteochondral Tissue Equivalents by Printing Topologically Defined, Cell-Laden Hydrogel Scaffolds." *Tissue Engineering. Part C, Methods*, vol. 18, no. 1, Jan. 2012, pp. 33–44, doi:10.1089/ten.TEC.2011.0060.
- Gerecht, Sharon, et al. "Hyaluronic Acid Hydrogel for Controlled Self-Renewal and Differentiation of Human Embryonic Stem Cells." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 104, no. 27, July 2007, pp. 11298–303, doi:10.1073/pnas.0703723104.

- Gillispie, Gregory, et al. "Assessment Methodologies for Extrusion-Based Bioink Printability." *Biofabrication*, vol. 12, no. 2, 2020, pp. 1–28, doi:10.1088/1758-5090/ab6f0d. (Defineix el terme de viscositat)
- Gu, Jingxia, et al. "Programmable Delivery of Hydrophilic Drug Using Dually Responsive Hydrogel Cages." *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, vol. 117, no. 3, 2007, p. 396—402, doi:10.1016/j.jconrel.2006.11.029.
- Hahn, Mariah S., et al. "Collagen Composite Hydrogels for Vocal Fold Lamina Propria Restoration." *Biomaterials*, vol. 27, no. 7, 2006, p. 1104—1109, doi:10.1016/j.biomaterials.2005.07.022.
- Highley, Christopher B., et al. "Direct 3D Printing of Shear-Thinning Hydrogels into Self-Healing Hydrogels." *Advanced Materials (Deerfield Beach, Fla.)*, vol. 27, no. 34, Sept. 2015, pp. 5075–79, doi:10.1002/adma.201501234.
- Houser, Franklin. *3D Printed Food: A Culinary Guide to 3D Printing Food | All3DP*. <https://all3dp.com/1/3d-printed-food-3d-printing-food/>. Accessed 4 Aug. 2020. (Menciona les aplicacions de la bioimpressió en l'àmbit de la gastronomia)
- Hunt, Nicola C., and Liam M. Grover. "Cell Encapsulation Using Biopolymer Gels for Regenerative Medicine." *Biotechnology Letters*, vol. 32, no. 6, 2010, pp. 733–42, doi:10.1007/s10529-010-0221-0.
- Ichioka, S., et al. "An Experimental Comparison of Hydrocolloid and Alginate Dressings, and the Effect of Calcium Ions on the Behaviour of Alginate Gel." *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery and Hand Surgery*, vol. 32, no. 3, Sept. 1998, pp. 311–16, doi:10.1080/02844319850158660.
- Itoh, Manabu, et al. "Scaffold-Free Tubular Tissues Created by a Bio-3D Printer Undergo Remodeling and Endothelialization When Implanted in Rat Aortae." *PLoS ONE*, vol. 10, no. 9, 2015, pp. 1–15, doi:10.1371/journal.pone.0136681.
- Janmey, Paul A., et al. "Fibrin Gels and Their Clinical and Bioengineering Applications." *Journal of the Royal Society, Interface*, vol. 6, no. 30, Jan. 2009, pp. 1–10, doi:10.1098/rsif.2008.0327.
- Jensen, Ole Mejlhede, and Per Freiesleben Hansen. "Water-Entrained Cement-Based Materials: II. Experimental Observations." *Cement and Concrete Research*, vol. 32, no. 6, Elsevier, 2002, pp. 973–78.
- Karadağ, Erdener, et al. "Swelling Studies of Copolymeric Acrylamide/Crotonic Acid Hydrogels as Carriers for Agricultural Uses." *Polymers for Advanced Technologies*, vol. 11, no. 2, John Wiley & Sons, Ltd, Feb. 2000, pp. 59–68, doi:10.1002/(SICI)1099-1581(200002)11:2<59::AID-PAT937>3.0.CO;2-Z.
- Karzyński, Kamil, et al. "Use of 3D Bioprinting in Biomedical Engineering for Clinical Application." *Medical Studies*, vol. 34, no. 1, 2018, pp. 93–97, doi:10.5114/ms.2018.74827. (Dates dels events mencionats en l'apartat "Història de la bioimpressió" i la definició de què és una bioimpressora)

- Kevin Range, and Darrin M. York Adam Moser. “基因的改变NIH Public Access.” *Bone*, vol. 23, no. 1, 2012, pp. 1–7, doi:10.1038/jid.2014.371. (Menciona les aplicacions de la bioimpressió en els àmbits de l'enginyeria de teixits i la medicina regenerativa)
- Kim, Geunhyung, et al. “Coaxial Structured Collagen-Alginate Scaffolds: Fabrication, Physical Properties, and Biomedical Application for Skin Tissue Regeneration.” *J. Mater. Chem.*, vol. 21, Apr. 2011, pp. 6165–72, doi:10.1039/C0JM03452E.
- Kim, Ji Seon, et al. “Bio-Ink Materials for 3D Bio-Printing.” *Journal of International Society for Simulation Surgery*, vol. 3, no. 2, 2016, pp. 49–59, doi:10.18204/jissis.2016.3.2.049. (Defineix quines són les parts d'una bioimpressora i les seves respectives funcions, menciona quins tipus de biotintes naturals s'utilitzen per la bioimpressió i també defineix el concepte de temps *gelation*)
- Knowlton, Stephanie, et al. “Bioprinting for Cancer Research.” *Trends in Biotechnology*, vol. 33, no. 9, Elsevier Ltd, 2015, pp. 504–13, doi:10.1016/j.tibtech.2015.06.007. (Menciona les aplicacions de la bioimpressió en l'àmbit de la recerca del càncer)
- Kopeček, Jindřich, and Jiyuan Yang. “Review - Hydrogels as Smart Biomaterials.” *Polymer International*, vol. 56, 2007, pp. 1078–98, doi:10.1002/pi.2253.
- Kulicket W, Kull AH, Kull W, Thielking, Engelhardt HJ, Pannek J. *POLYMER*. 1996, pp. 37: 2723–2730.
- Lee, Kuen Yong, and David J. Mooney. “Alginate: Properties and Biomedical Applications.” *Progress in Polymer Science*, vol. 37, no. 1, Jan. 2012, pp. 106–26, doi:10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003.
- Lee, Wonhye, et al. “Multi-Layered Culture of Human Skin Fibroblasts and Keratinocytes through Three-Dimensional Freeform Fabrication.” *Biomaterials*, vol. 30, Mar. 2009, pp. 1587–95, doi:10.1016/j.biomaterials.2008.12.009.
- Li, Yan, et al. “Thermoresponsive Gating Characteristics of Poly(N-Isopropylacrylamide)-Grafted Porous Poly(Vinylidene Fluoride) Membranes.” *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 43, no. 11, American Chemical Society, May 2004, pp. 2643–49, doi:10.1021/ie034334j.
- Liu, C. Z., et al. “Novel 3D Collagen Scaffolds Fabricated by Indirect Printing Technique for Tissue Engineering.” *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*, vol. 85, no. 2, 2008, p. 519–528, doi:10.1002/jbm.b.30975.
- Loai, Sadi, et al. “Clinical Perspectives on 3D Bioprinting Paradigms for Regenerative Medicine.” *Regenerative Medicine Frontiers*, 2019, pp. 1–40, doi:10.20900/rmf20190004. (Utilitzat per a definir adequadament una bioimpressora)
- Magdalena Przychodniak. *The History of Bioprinting - CD3D*. <https://3dprintingcenter.net/2019/05/12/the-history-of-bioprinting/>. Accessed 3 Aug. 2020. (Dates dels events mencionats en l'apartat "Història de la bioimpressió")
- Maitra, Jaya, and Vivek Kumar Shukla. “Crosslinking in Hydrogels - A Review.” *American Journal of Polymer Science*, vol. 4, no. 2, 2014, pp. 25–31,

doi:10.5923/j.ajps.20140402.01. (Defineix el concepte d'hidrogel i reticulació)

Makris, Eleftherios A., et al. "Repair and Tissue Engineering Techniques for Articular Cartilage." *Nature Reviews. Rheumatology*, vol. 11, no. 1, Jan. 2015, pp. 21–34, doi:10.1038/nrrheum.2014.157.

Mano, F., et al. *Natural Polymers for the Microencapsulation of Cells*. 2014.

Moroni, L., et al. "3D Fiber-Deposited Scaffolds for Tissue Engineering: Influence of Pores Geometry and Architecture on Dynamic Mechanical Properties." *Biomaterials*, vol. 27, no. 7, Mar. 2006, pp. 974–85, doi:10.1016/j.biomaterials.2005.07.023. (Menciona les aplicacions de la bioimpressió en els àmbits de l'enginyeria de teixits i la medicina regenerativa)

Müller, Michael, et al. "Nanostructured Pluronic Hydrogels as Bioinks for 3D Bioprinting." *Biofabrication*, vol. 7, no. 3, IOP Publishing, 2015, p. 35006, doi:10.1088/1758-5090/7/3/035006.

Nam, Ki-Hwan, et al. "Biomimetic 3D Tissue Models for Advanced High-Throughput Drug Screening." *Journal of Laboratory Automation*, vol. 20, no. 3, June 2015, pp. 201–15, doi:10.1177/2211068214557813.

NASA. *3D Printing: Food in Space* / NASA. https://www.nasa.gov/directorates/spacetech/home/feature_3d_food.html. Accessed 4 Aug. 2020.

Overview of Cell Viability and Survival / *Cell Signaling Technology*. https://www.cellsignal.com/contents/_/synopsis-of-cell-proliferation-metabolic-status-and-cell-death/cell-viability-and-survival. Accessed 3 Aug. 2020. (Defineix el terme de viabilitat cel·lular)

Ozbolat, Ibrahim T., et al. "Application Areas of 3D Bioprinting." *Drug Discovery Today*, vol. 21, no. 8, 2016, pp. 1257–71, doi:10.1016/j.drudis.2016.04.006. (Menciona com la bioimpressió es pot aplicar en àrees mèdiques com transplantacions i assajos clínics)

Ozbolat, Ibrahim T., and Yin Yu. "Bioprinting toward Organ Fabrication: Challenges and Future Trends." *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 60, no. 3, 2013, pp. 691–99, doi:10.1109/TBME.2013.2243912.

Palmer, Liam C., et al. "Biomimetic Systems for Hydroxyapatite Mineralization Inspired by Bone and Enamel." *Chemical Reviews*, vol. 108, no. 11, Nov. 2008, pp. 4754–83, doi:10.1021/cr8004422.

Rana, Deepti, et al. "Cell-Laden Hydrogels for Tissue Engineering." *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, vol. 4, no. 7, 2014, pp. 507–35, doi:10.1166/jbt.2014.1206. (Defineix el concepte d'hidrogel)

Roseti, Livia, et al. "Three-Dimensional Bioprinting of Cartilage by the Use of Stem Cells: A Strategy to Improve Regeneration." *Materials (Basel, Switzerland)*, vol. 11, no. 9, MDPI, Sept. 2018, p. 1749, doi:10.3390/ma11091749.

Rubin, Gareth. *How Do You like Your Beef... Old-Style Cow or 3D-Printed?* / *Technology* /

- The Guardian*. <https://www.theguardian.com/technology/2019/nov/10/3d-printed-meat-european-restaurant-menus-environment>. Accessed 4 Aug. 2020. (Menciona les aplicacions de la bioimpressió en l'àmbit de la gastronomia)
- Scionti, Giuseppe, et al. *Plant-Based Meat / NOVAMEAT / Barcelona*. <https://www.novameat.com/>. Accessed 4 Aug. 2020.
- Sgambato, Antonella, et al. "Bioresponsive Hydrogels: Chemical Strategies and Perspectives in Tissue Engineering." *Gels (Basel, Switzerland)*, vol. 2, no. 4, Oct. 2016, doi:10.3390/gels2040028.
- Shi, Xiaolei. "Printability Of Hydrogel Composites Using Extrusion-Based 3D Printing And Post-Processing With Calcium Chloride." *Food Science and Nutrition*, vol. 5, no. 2, 2019, pp. 1–5, doi:10.24966/fsn-1076/100051.
- Slaughter, Brandon V, et al. "Hydrogels in Regenerative Medicine." *Advanced Materials (Deerfield Beach, Fla.)*, vol. 21, no. 32–33, Sept. 2009, pp. 3307–29, doi:10.1002/adma.200802106.
- Smith, Cynthia M., et al. "Three-Dimensional Bioassembly Tool for Generating Viable Tissue-Engineered Constructs." *Tissue Engineering*, vol. 10, no. 9–10, 2004, pp. 1566–76, doi:10.1089/ten.2004.10.1566.
- Snyder, J. E., et al. "Bioprinting Cell-Laden Matrigel for Radioprotection Study of Liver by pro-Drug Conversion in a Dual-Tissue Microfluidic Chip." *Biofabrication*, vol. 3, no. 3, 2011, doi:10.1088/1758-5082/3/3/034112. (Menciona les aplicacions de la bioimpressió en l'àmbit de la recerca de fàrmacs)
- Sun X, Zhang G, Shi Q, Tang B, Wu Z. *J. Appl. Polym. Sci.* 2002, pp. 3712–17.
- Tetrick, Joshua. *JUST Meat / Meat Made More Efficiently*. <https://www.ju.st/en-us/stories/clean-meat>. Accessed 4 Aug. 2020.
- Theobald, Shannon. *10 Must-Knows in the Future of Food: Bioprinting. / by Shannon Theobald / Printing Your Dinner / Medium*. <https://medium.com/printing-your-dinner/10-must-knows-in-the-future-of-food-bioprinting-35a3197fdf55>. Accessed 4 Aug. 2020. (Menciona les aplicacions de la bioimpressió en l'àmbit de la gastronomia)
- Vaidya, Manasi. "Startups Tout Commercially 3D-Printed Tissue for Drug Screening." *Nature Medicine*, vol. 21, no. 1, 2015, p. 2, doi:10.1038/nm0115-2.
- Vitz, Ed, et al. 8.26: *Crosslinking - Chemistry LibreTexts*. [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/General_Chemistry/Book%3A_ChemPRIME_\(Moore_et_al.\)/08%3A_Properties_of_Organic_Compounds/8.26%3A_Crosslinking](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/General_Chemistry/Book%3A_ChemPRIME_(Moore_et_al.)/08%3A_Properties_of_Organic_Compounds/8.26%3A_Crosslinking). Accessed 4 Aug. 2020.
- Warson, H. "Modern Superabsorbent Polymer Technology, Edited by F L Buchholz and A T Graham, Wiley-VCH, New York, 1998, PP Xvii + 279, ISBN Price £85.00." *Polymer International*, vol. 49, no. 11, John Wiley & Sons, Ltd, Nov. 2000, p. 1548, doi:10.1002/1097-0126(200011)49:11<1548::AID-PI482>3.0.CO;2-D.
- William Harris. *How 3-D Bioprinting Works / HowStuffWorks*.


<https://health.howstuffworks.com/medicine/modern-technology/3-d-bioprinting.htm#pt1>. Accessed 3 Aug. 2020. (Dates dels events mencionats en l'apartat "Història de la bioimpressió")


- Wimpenny, Ian, and Mark Ahearne. "Portable Nanofiber Meshes Dictate Cell Orientation throughout Three-Dimensional Hydrogels." *Nanomedicine : Nanotechnology, Biology, and Medicine*, vol. 7, 2011, pp. 131–36, doi:10.1016/j.nano.2010.12.011.
- Winer, Jessamine P., et al. "Non-Linear Elasticity of Extracellular Matrices Enables Contractile Cells to Communicate Local Position and Orientation." *PLOS ONE*, vol. 4, no. 7, Public Library of Science, July 2009, p. e6382, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006382>.
- Yanez, Maria, et al. "In Vivo Assessment of Printed Microvasculature in a Bilayer Skin Graft to Treat Full-Thickness Wounds." *Tissue Engineering. Part A*, vol. 21, no. 1–2, Jan. 2015, pp. 224–33, doi:10.1089/ten.TEA.2013.0561.

ANNEX I

AXIS-X

NOM	QUANTITAT	PREU	LLOC DE COMPRA
Varetes llises M8 de 340mm	2	Es menciona el preu i el lloc de compra a l'axis-Y	
Volanderes M3	3		
Rodament 624ZZ	1	Tots els rodaments, politjes i corretja que es mencionen en les diferents taules van costar un preu conjunt de 15,99€	Amazon
Rodaments LM8UU	4 (originalment són 3 però en el meu cas se l'hi ha afegit un altre per a donar-li més mobilitat)		
Politja GT2	1		
Cargols M3 de 14mm	4	Un assortit ple de tot tipus de cargols i femelles de tipus M3 em va costar 15,99€	Amazon
Femella M3	1		
Motor NEMA 17	1	6,8€	Aliexpress
Greix de liti	La quantitat que es cregui necessària	X	Ja estava disponible a casa


NOM	QUANTITAT	IMATGE
X-End Idler	1	


X-End Motor	1	
-------------	---	---

AXIS-Y

NOM	QUANTITAT	PREU	LLOC DE COMPRA
Varetes roscades M10 de 400mm	2	Totes les diferents varetes, femelles (excepte les M3), volanderes i brides van costar un preu conjunt de 18,7€	Bricodepot
Varetes roscades M8 de 220mm	4		
Varetes llises M8 D'ACER (Alumini no és vàlid) de 370mm	2		
Cargol hexagonal M8	1		
Femelles M10	8		
Volanderes M10	8		
Femelles M8	22 (Si pot afegir-hi 4 més per adhesió)		
Volanderes M8	22 (Si pot afegir-hi 4 més per adhesió)		
Brides	12		
Plataforma	1	2€	Qualsevol basar xinès
Rodaments LM8UU	3	Es menciona el preu complet i el lloc de compra a l'axis-X	
Rodament 608ZZ	1		
Politja GT2	1		
Corretja dentada	1		

Cargols per a fusta de 10mm	2	X	Ja estava disponible a casa
Motor NEMA 17	1	6,8€	Aliexpress
Cargols M3 de 10mm	3	Ja s'ha mencionat el preu i el lloc de compra a l'axis-X	
Volanderes M3	6		
Greix de liti	La quantitat que es cregui necessària	X	Ja estava disponible a casa

NOM	QUANTITAT	IMATGE
Y-Belt Holder	1	
Y-Corner	4	
Y-Motor	1	

Y-Idler	1	
---------	---	---

AXIS-Z

NOM	QUANTITAT	PREU	LLOC DE COMPRA
Varetes llises M8 de 370mm	2	Ja s'ha mencionat el preu i el lloc de compra a l'axis-Y	
Varetes roscades M5 de 310mm	2		
Rodaments LM8UU	4	Ja s'ha mencionat el preu i el lloc de compra a l'axis-Y	
Acobladors flexibles de 5mm x 5mm	2	3,9€ total	Amazon
Motor NEMA 17	2	13,6€ total	Aliexpress
Cargols M3 de 12mm	6	Ja s'ha mencionat el preu i el lloc de compra a l'axis-X	
Volanderes M3	12		
Greix de liti	La quantitat que es cregui necessària	X	Ja estava disponible a casa

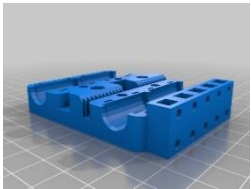
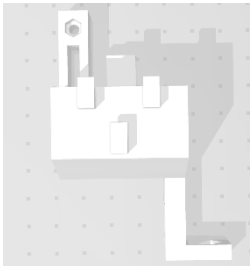
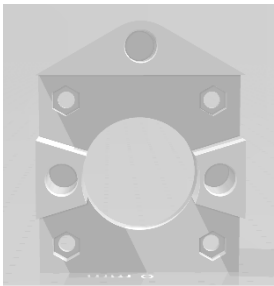
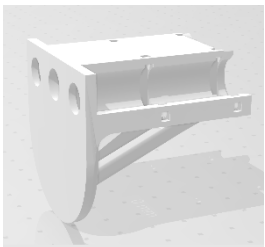
NOM	QUANTITAT	IMATGE
Z-Axis Top Left	1	
Z-Axis Top Right	1	
Z-Axis Bottom Left	1	
Z-axis Bottom Right	1	

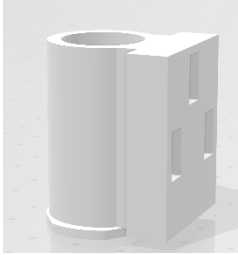


EXTRUSOR

NOM	QUANTITAT	PREU	LLOC DE COMPRA
Varetes llises M6 de 205mm	2	Ja s'ha mencionat el preu i el lloc de compra a l'axis-Y	
Vareta llisa M6 de 180mm	1		
Vareta roscada M8 de 160mm	1		
Motor NEMA 17	1	6,8€	Aliexpress
Rodaments LM6UU	4	4€	Amazon
Cargols M3 de 12mm	4	Ja s'ha mencionat el preu i el lloc de compra a l'axis-X	
Cargols M3 de 20mm	2		
Volanderes M3	16		
Maneguet hexagonal M8 de 30mm	1	2€	Bricomart/Bricodepot
Acoblador flexible	1	1,95€	Amazon
Xeringa	1	5,64€ incloent-hi tres tipus de xeringues (una d'1ml, una de 2ml i una de 5ml)	Amazon
Brides	8	Ja s'ha mencionat el preu i el lloc de compra a l'axis-Y	

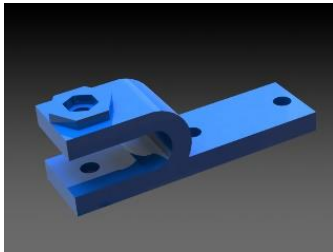
Corretja	1	Ja s'ha mencionat el preu i el lloc de compra a l'axis-Y	
Greix de liti	La quantitat que es cregui necessària	X	Ja estava disponible a casa

NOM	QUANTITAT	IMATGE
X-Carriage	1	
Adapter	1	
Servo Mount	1	
Press	1	

Syringe holder	1	
----------------	---	---

ENDSTOPS

NOM	QUANTITAT	PREU	LLOC DE COMPRA
Endstops	3	6€ en total	Createc 3D
Cargols i femelles M3	La quantitat que es cregui necessària	Ja s'ha mencionat el preu i el lloc de compra a l'axis-X	
OPCIONAL: Brides (poden caldre per a estabilitzar un endstop)	La quantitat que es cregui necessària	Ja s'ha mencionat el preu i el lloc de compra a l'axis-Y	

NOM	QUANTITAT	IMATGE
Endstop holder	3	

HARDWARE

NOM	QUANTITAT	PREU	LLOC DE COMPRA
Placa Arduino Mega 2560	1		Amazon
Placa RAMPS 1.4	1		

Jumpers (Normalment van inclosos amb la RAMPS)	12	El preu total d'aquest (ja que es va comprar tot junt) és 29,29€	
Drivers A4988 POLOLUS	4		
Dissipadors de calor (van inclosos amb els drivers)	4		
Font d'alimentació de 12v	1	13€	Createc 3D
Cables	Com a mínim 30	3,3€ Un total de 120 unitats	Createc 3D

BIOTINTA

NOM	QUANTITAT	PREU	LLOC DE COMPRA
Aigua destil·lada (1L)	1	X	Ja estava disponible a casa
Alginat de sodi (150g)	1	9,3€	Amazon
Gelatina	1	X	Ja estava disponible a casa

ESTRUCTURA

NOM	QUANTITAT	PREU	LLOC DE COMPRA
Base de fusta aglomerada de 40 cm d'amplada i 80 cm de llargada	1	2,3€	Bricomart
Barres de metall de 40cm d'alçada	1	7€	Bricomart
Cargols de fusta	2	X	Ja estava disponible a casa

TOTAL = 172,55€